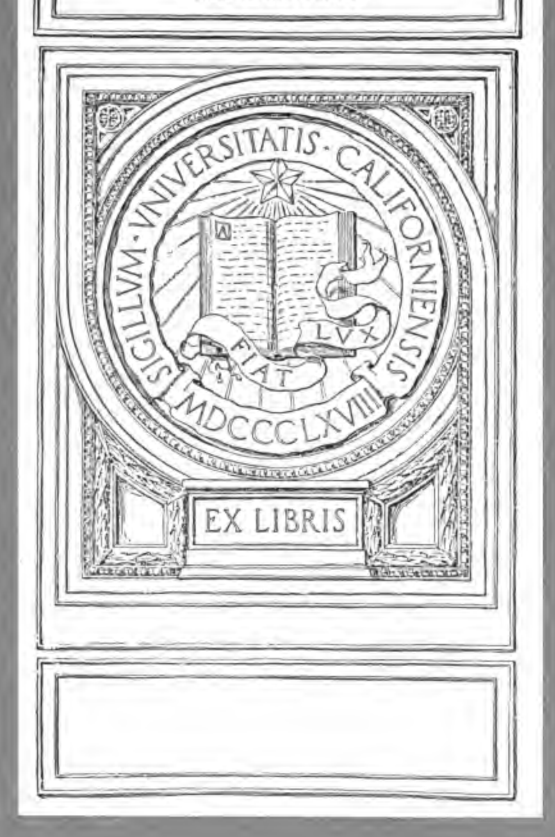
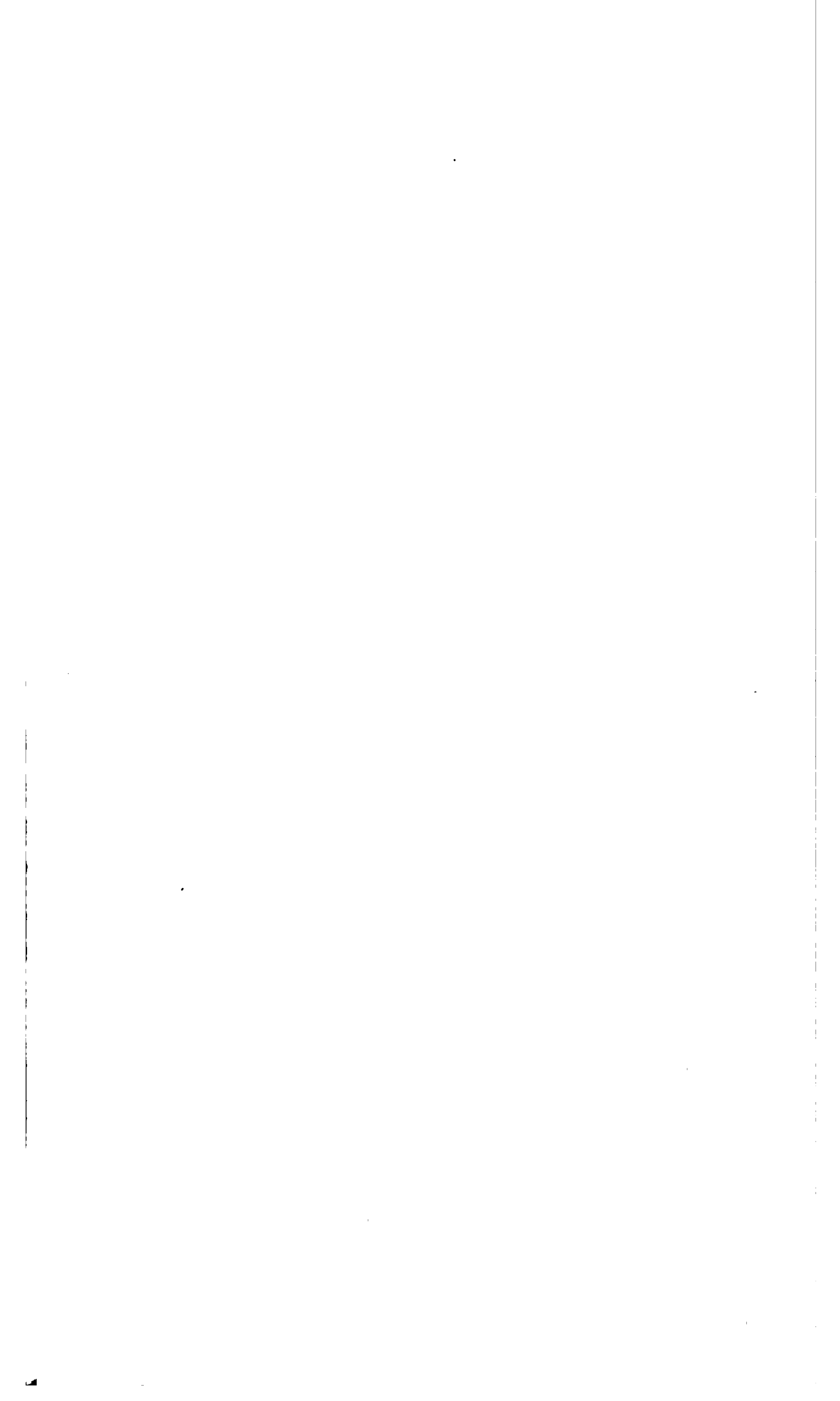
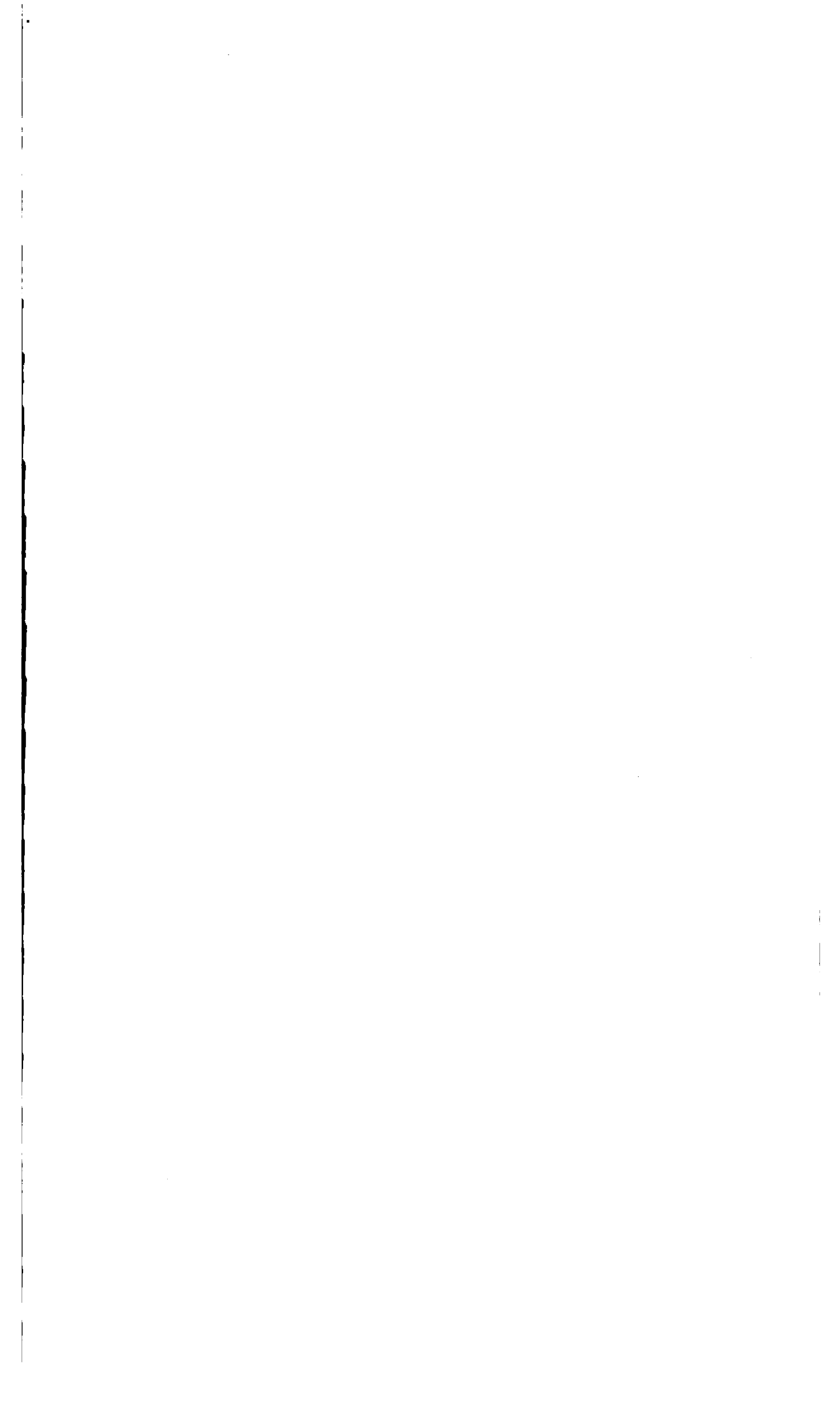

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO
SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
LVX
FIAT
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS







ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

Prof. E. BAUMANN in Freiburg, Prof. GÄHTGENS in Giessen, Prof. O. HAMMARSTEN in Upsala, Prof. HÜFNER in Tübingen, Prof. HUPPERT in Prag, Prof. JAFFE in Königsberg, Prof. E. LUDWIG in Wien, Prof. E. SALKOWSKI in Berlin und Prof. E. SCHULZE in Zürich

herausgegeben von

F. HOPPE-SEYLER,

Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg.

NEUNTER BAND.

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER.
1885.

Inhalt des neunten Bandes.

Heft I.

Heft II.

Heft III.

Ueber Spaltungsprodukte der Bacterien.

Von

Prof. Dr. L. Brieger.

Assistent der I. medicinischen Uuiversitäts-Klinik zu Berlin.

Aus dem Laboratorium der medic. Klinik des Herrn Wirkl. Geh. Ober-Medicinalraths Prof. Dr. von Frerichs.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. Juli 1884.)

Zweite Mittheilung.

In meiner letzen Mittheilung hatte ich mich nicht näher über die Methode ausgelassen, deren ich mich zur Gewinnung von bacteritischen Reinkulturen aus menschlichen Fæces bediente. Obwohl die bekannten Koch'schen Untersuchungsmethoden Jedem, der sich mit diesem Gegenstande beschäftigt, ohne Weiteres den Wegweiser zur Reinzüchtung von Bacterien abgeben, so sehe ich mich doch, um Missverständnissen zu begegnen, veranlasst, den von mir eingeschlagenen Weg zur Isolirung der in den menschlichen Excrementen enthaltenen Bacterien hier genauer zu schildern. Zu meinen Versuchen wählte ich nicht die zu allererst austretenden Kothballen, um nicht etwa von aussen in den After eingedrungenen Bacterien zu züchten, sondern die erst gegen Ende der Defæcation entleerten festen Scybala. Dieselben wurden mit einem ausgeglühten Messer durchgeschnitten nnd mitten in diese Bruchstellen durch drehende Bewegung eine geglühte Platinnadel möglichst tief hineingewühlt. Die an dieser Nadel haften bleibenden Kothpartikelchen wurden in einem bei 200° C. sterilisirten mit einem Wattepfropf verschlossenen Kolben von $^{1}/_{2}$ Liter Inhalt, der mit durch längere Zeit ausgekochtem Brunnenwasser fast gefüllt war, abgespült, und durch Schütteln in dem Wasser möglichst

fein vertheilt. Alsdann wurden sofort 20—30 cbcm. dieser infizirten Wassermasse in eine flache Schale gegossen, auf deren Boden ca. 200—300 cbcm. durch kurzes Erwärmen flüssig gemachte Koch'sche Fleischwasserpeptongelatine sich befanden und durch vorsichtiges Umschwenken eine möglichst gleichmässige Mischung von Gelatine und Wasser bewerkstelligt. Die mit Nährflüssigkeit versehene Schale war durch eine andere umgekehrt darüber gestülpte grössere Schale allseitig abgeschlossen und um vor jedem Eindringen von in der Luft befindlichen Bacterien absolut sicher zu sein, unter eine gläserne Butterglocke, wie sich deren Koch auch zu seinen Versuchen bedient, gebracht.

Selbstverständlich kamen nur sorgfältig sterilisirte Apparate und Nährlösungen zur Verwendung. Die nunmehr in obiger Weise präparirten und beschickten Gefässe wurden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es entwickelten sich nun auf der mittlerweilen wieder erstarrten Gelatine einzelne Keime, die leicht isolirt herausgehoben werden konnten. Durch wiederholte Uebertragung derartiger isolirter Keime in nach obiger Weise präparirten Schalen gelang es stets immer und immer wieder die gewünschte Species von Bacterien rein zu züchten. Mittelst dieser Methode ist es mir nun gelungen, aus den Fæces verschiedene Bacterienarten zu isoliren, welche ganz specifische chemische Wirkungen entfalten.

In meiner letzten Mittheilung habe ich Bacterienarten beschrieben, welche Kohlehydrate stets in der gleichen Richtung zerlegen. Zunächst hatte ich einen Coccus geschildert, der sowohl aus Trauben-, als auch aus Rohrzuckerlösung stets Aethylalkohol abspaltet. Dieser Coccus ist aber nicht, wie man etwa glauben könnte, hinsichtlich seines Nährmediums nur auf Kohlehydrate angewiesen. Er gedeiht auch auf Eiweissstoffen, wie gekochtem Hühnereiweiss, Serumeiweiss, Fibrin, doch ist dieser Coccus nicht im Stande, diese Eiweissarten, selbst nach monatelangem Wachsthum, weder bei Bruttemperatur noch bei Stubenwärme zu verflüssigen oder eine irgendwie nachweisbare chemische Alteration der eiweisshaltigen Nährsubstrate hervorzurufen. Auch der von

mir geschilderte Bacillus, welcher in eigenthümlich typischer Anordnung in unregelmässig concentrisch gruppirter Ringform auf Koch'scher Fleischwasserpeptongelatine wächstund, Meerschweinchen injicirt, die Thiere in kürzester Zeit ausnahmslos tödtet, vermag nicht aus den complexen Eiweissstoffen einfach zusammengesetzte Körper abzuspalten, obwohl sich Eiweiss für diesen Bacillus als ein sehr gutes Nährmedium erweist. Eigenthümlich ist es, dass Kulturen dieses auf Koch'scher Nährgelatine gezüchteten Bacillus nach längerem Stehen in ihren centralen Partien eine gelb-weisse Beschaffenheit annehmen, die von Incrustationen mit Salzen herrührt und die die eigenthümliche concentrische Gruppirung des Bacillus noch sehr wohl erkennen lässt. Dieser Bacillus übt stets, gleichgültig ob er bei höheren (40 C°.) oder niederen (10° C.) Temperaturen, ob er auf Kohlehydraten oder Eiweissstoffen cultivirt wird, Meerschweinchen injicirt, eine deletäre Wirkung aus, während, wie schon früher angegeben, Mäuse und Kaninchen meistentheils refraktär dagegen sind. Die aus sterilisirten Traubenzuckerlösungen bei Temperaturen von 36—38° C. durch diesen Bacillus abgespaltenen Säuren sind, wie ich schon in meiner ersten Mittheilung nachgewiesen habe, vorzugsweise Propionsäure. Ich habe jetzt noch wiederholt Traubenzuckerlösungen mit diesem Bacillus beschickt, um mir noch grössere Mengen dieser Säuren zu verschaffen und aus den leicht zu reinigenden Silbersalzen die Natur dieser Säuren endgültig festzustellen. Eine grössere Menge derartiger Säuren aus mehreren Kulturen gesammelt, gab, mit Silberoxyd gekocht, nach wiederholtem Umkrystallisiren ein in feinen glänzenden Büscheln krystallisirendes Silbersalz von 60,44 % Ag. Propionsaures Silber verlangt 59,67 % Ag. Der genannte Bacillus bildet somit aus Traubenzuckerlösung vorzugsweise Propionsäure, der minimale Mengen Essigsäure beigemischt sind.

Andere Bacterienarten, welche ich noch aus menschlichen Fæces isolirt habe, sind vorläufig noch nicht in genügender Weise auf ihre chemische Energie von mir geprüft worden. Mir schien es gegenwärtig viel wichtiger, die che-

mische Wirksamkeit von pathogenen Bacterien weiter zu erforschen. Wie ich in meiner ersten Mittheilung nachwies, gedeiht der von Friedländer als Erreger der croupösen Pneumonie angesprochene Coccus ganz vorzüglich auf Trauben- und Rohrzuckerlösungen, die mit frisch gefälltem Kalk versetzt sind, und denen, wie ich hier noch bemerken will, geringe Mengen stickstoffhaltiger Substanzen (Fibrin) und Nährsalze (Chlornatrium, phosphorsaures Kali, schwefelsaures Magnesium) selbstverständlich beigefügt werden müssen.

Am zweckentsprechendsten erwiesen sich mir 5 proc. Traubenzuckerlösungen, die auf ½ Liter Flüssigkeit 3 bis 4 cbcm. nach Koch'scher Vorschrift angefertigte Fleischwasserpeptongelatine gelöst enthalten. Mit ¾ Liter derartig zubereiteter Mischung wurden sechs bei 150° sterilisirte Kolben gefüllt, vier Tage lang je ½ Stunde lang gekocht und dann beim Erkalten eine Suspension von kohlensaurem Kalk, die vorher ca. eine Stunde lang über freiem Feuer in einem sterilisirten Gefässe gekocht hatte, heiss hinzugegossen. Erst nach völligem Erkalten dieses Gemisches wurde mittelst geglühter Platinnadel eine minimale Menge von Pneumonie-Coccen, die einer möglichst frischen Kultur entnommen worden waren, hineingebracht. Diese Kulturen, im Brutofen bei 36—38° C. stehen gelassen, trübten sich bald, ohne dass aber wieder die früher geschilderten Erscheinungen der Dunkelfärbung mit der rapiden Gasentwickelung zur Beobachtung kamen. Es entstiegen innerhalb acht Stunden schon langsam Gasblasen aus dem auf dem Boden des Kolbens sich befindlichen kohlensauren Kalkes. Nach zwölfstündigem Stehen wurde die Gasentwickelung reichlicher, und die Kulturen verfärbten sich mehr und mehr schmutzig-gelb und wurden dabei völlig undurchsichtig. Diese Gasentwickelung dauerte bei zwei Kolben, welche während zwei Monate im Brutofen bei 36—38° C. gehalten wurden, unterbrochen an, ohne dass aber eine Aenderung in dem schmutzig-gelben Aussehen der Kultur je zu constatiren war. Nur der am Grunde des Gefässes gelagerte kohlensaure Kalk nahm allmählich ab. Bei Temperaturen über 40° C. hörte die Gasentwickelung bald

auf, um aber bei niederen Temperaturen bald wieder aufzutreten. Injektionen, die mit diesen Kulturen zu verschiedenen Zwecken, selbst nach zwei Monate langem Stehen in die Brust von Meerschweinchen oder Mäusen gebracht wurden, erzeugten bei allen Mäusen Pleuritiden, verbunden hie und da mit lobulärer Pneumonie, nie aber mit lobärer Pneumonie. Die Meerschweinchen zeigten sich viel resistenter, indem nur eine sehr geringe Zahl nach der Injektion an Pleuritis zu Grunde ging. Die in den Exsudaten von Meerschweinchen und Mäusen gefundenen Coccen und kleinsten Stäbchen präsentirten sich stets in ihrer charakteristischen Kapsel. Wurden nun die mit Pneumoniecoccen infizirten Traubenzuckerkulturen mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, so gingen in die Vorlage hauptsächlich Essigsäure neben Ameisensäure (cf. diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 310) und Aethylalkohol über. Dass in der That vorzugsweise Essigsäure vorhanden war, bewiesen die aus dem Destillate dargestellten Silbersalze, wie aus folgenden Belegen ersichtlich wird.

a) Die vereinigten Destillate zweier Kulturen, welche sieben Tage lang im Brutofen standen, gaben beim Kochen mit Ag_2O nach wiederholtem Eindampfen und Abfiltriren ein in langen Nadeln krystallisirendes Silbersalz mit 64,89% Ag.
b) Aus dem Destillate einer Kultur, die zwei Monate lang im Brutofen bei 36—38° C. gehalten worden war, gewann ich ein in wohl ausgebildeten Nadeln krystallisirendes Silbersalz von 63,66% Ag.

Es handelt sich somit um die Silbersalze der Essigsäure, welche 64,67% Ag erforderte.

Bei einem 14-tägigen Versuche, im Brutofen auf sterilisirtem milchsaurem Kalk (500 cbcm. einer 5-proc. Lösung mit 3 cbcm. Koch'scher Fleischwasserpeptongelatine) Pneumoniecoccen, welche in dieser Nährlösung sich sehr gut entwickelten, zu züchten, ergab sich nach dem Destilliren mit verdünnter Schwefelsäure ein warzenförmig krystallisirendes Silbersalz von 63,20% Ag.

Diese Energie, Essigsäure abzuspalten, hält auch der Pneumoniecoccus bei, wenn er auf Kreatinlösung gebracht

wird, indem er aus derselben zwar langsam aber stetig nur Essigsäure, allerdings nur in geringen Quantitäten, abspaltet. Dieser Coccus vermehrt sich auch auf Pepton- und Eiweisssubstanzen, ohne aber nachweisbare chemische Produkte zu liefern.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, dass dem Friedländer'schen Pneumoniecoccus nur eine ganz geringe chemische Umsetzungskraft innewohnt, und kann somit dieses Moment für seine Wirksamkeit im thierischen Organismus nicht weiter in Frage kommen. Es müssen hier noch andere Faktoren in Betracht gezogen werden, welche die Fähigkeit dieses Coccus, Entzündungen zu erregen, erklären. Neben der rein mechanischen Wirkung dieses Coccus kann hierfür noch die chemische Zusammensetzung desselben eventuell verantwortlich gemacht werden. Behufs Aufklärung dieses letzteren Punktes wurden Kulturen der Pneumonie im Grossen angelegt. Zu diesem Zwecke wurden grosse, flache Schalen mit Nährgelatine ausgegossen und durch Platinnadeln, welche mit diesem Coccus armirt werden, lange Impfstriche auf der Oberfläche dieser Gelatine, sobald dieselbe erstarrt war, gezogen. Selbstverständlich waren alle Massregeln zur gründlichen Sterilisation, sowie zur Verhütung von äusseren Eindringlingen getroffen worden. Längs der Impfstriche wuchsen nun bald die Pneumoniecoccen in Form weisser Streifen, die allmählich sowohl in die Breite als auch in die Höhe strebten, und nach 4-wöchentlichem Wachsthum die Form von Pflanzenbeeten angenommen hatten, welche nun durch stumpfe Spatel von ihrem Untergrunde ohne jede Beimengung des Nährmediums leicht abgehoben werden konnten. Während des Wachsthums dieser Massenkulturen war eine eigenthümliche Veränderung in den Kulturen selbst zu constatiren, insofern die im Centrum der Kultur befindlichen Bacterienhaufen eine schwach gelbliche Färbung zeigten, welche sich sichtlich von den transparenten peripherwärts gelegenen Bacterienhaufen unterschieden. Je älter die Kultur, desto breiter und compakter wurden die centralen Partieen, die beim Abheben der Kultur als zusammenhängende mit Salzen imprägnirte

Krusten sich erwiesen. Da zur chemischen Untersuchung eine grosse Menge von Coccen erforderlich waren, so kamen, wie bereits gesagt, nur vier Wochen alte Kulturen zur Verarbeitung, jedoch unmittelbar nach dem Einsammeln.

Die Kulturen reagirten sowohl in ihren peripheren als centralen Theilen jederzeit alkalisch. Ueber die chemische Zusammensetzung derselben gibt folgende Uebersicht Aufschluss:

Wassergehalt		84,20 %
Trockensubstanz		15,80 «
Fettgehalt der trockenen Substanz		1,74 «
Aschegehalt der entfetteten und bei 110° getrockneten Substanz	a)	30,02 «
	b)	30,25 «
Stickstoffgehalt der entfetteten Substanz, wasserfrei und aschefrei berechnet	a)	9,50 «
	b)	10,0 «

Die Aschenbestandtheile setzten sich zusammen aus phosphorsaurem Calcium, phosphorsaurem Magnesium, schwefelsaurem Natron und Chlornatrium.

Die organische Grundsubstanz des Pneumoniecoccus löst sich in Wasser nur unvollkommen, und kann nach dem Nencki'schen Verfahren als Mykoproteïn nicht gefällt werden, unterscheidet sich davon auch schon durch den geringeren N-Gehalt. Die in Wasser unvollkommen gelöste Substanz wird beim Kochen völlig daraus niedergeschlagen, löst sich aber beim Ansäuern mit verdünnter Salpetersäure in der Wärme wieder auf. Ferrocyankalium und Essigsäure, Salpetersäure, Salzsäure und Chlornatrium, Gerbsäure bewirken Niederschläge der theilweise gelösten Substanz. Mit Kupfersulfat und Natronlauge gibt dieselbe in der Kälte schon die charakteristische Biuretreaktion. Glycogen konnte nicht nachgewiesen werden. In der chemischen Zusammensetzung der Pneumoniecoccen findet sich also Nichts, was ihren bösartigen Charakter erklären könnte; auch der Versuch mittelst der von anderwärts angegebenen Methoden zur Darstellung von Ptomainen aus den Reinkulturen dergleichen Substanzen zu isoliren, verlief resultatlos.

Zur Kenntniss der Eiweissfäulniss, II: Die Skatolcarbonsäure, nach gemeinschaftlich mit H. Salkowski in Münster i/W. angestellten Versuchen.

Von

E. Salkowski in Berlin.

(Der Redaktion zugegangen am 23. Juli 1884.)

Neben Indol und Skatol liefert die Fäulniss des Eiweiss, wie wir gefunden haben, noch eine in diese Reihe gehörige Substanz, die Skatolcarbonsäure, die wir bereits in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft beschrieben haben[1].) Der Vollständigkeit wegen wiederholen wir an dieser Stelle die auf die Darstellung und Eigenschaften der Säure bezüglichen Angaben und ergänzen sie durch die seitdem gewonnenen Erfahrungen.

Die Skatolcarbonsäure ist nicht flüchtig und findet sich desshalb neben vielen anderen Produkten der Fäulniss in dem Destillationsrückstand (vergl. die vorhergehende Mittheilung über die Bildung des Indols und Skatols[2]). Es erscheint uns zweckmässig, an dieser Stelle den bei der Verarbeitung der Destillationsrückstände eingehaltenen Gang in den Grundzügen anzugeben, während Einzelheiten besser bei den einzelnen Körpergruppen zur Erörterung kommen werden. Der Gang ist ziemlich complicirt und muss es sein, da es hier gilt, eine grosse Anzahl von Körpern — flüchtige fette Säuren, flüchtige aromatische Säuren, nichtflüchtige fette und aromatische Säuren, Bernsteinsäure, basische Substanzen,

---

[1]) Bd. XIII, S. 191 und 2217.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 423.

Leucin, Pepton, endlich Reste unveränderter Eiweisssubstanz, die Substanz der Bacterien und unorganische Salze — zu trennen.

Zur Erleichterung der Verständigung nehmen wir auf das beistehende Schema Bezug.

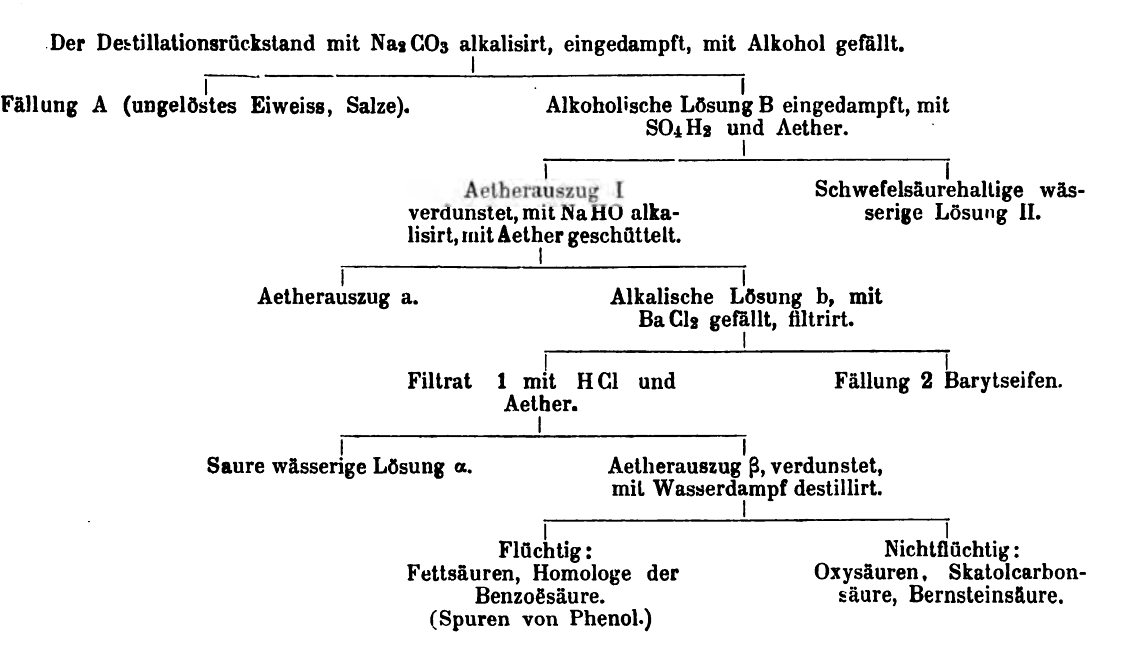
(Schema folgt auf nächster Seite.)

In erster Linie handelte es sich darum, die noch vorhandenen Reste von ungelöstem Eiweiss sammt der Substanz der Bacterien von der Lösung zu trennen. Direktes Filtriren erwies sich als undurchführbar: die Filtration stockte bald. Wenn man Säuren zu Hülfe nimmt, und die ganz trübe Flüssigkeit nochmals aufkocht, so gelingt es allerdings, ein ganz klares Filtrat zu erhalten, immer aber nimmt die Filtration sehr viel Zeit in Anspruch. Es wurde daher ein anderer Weg eingeschlagen. Der ganze Destillationsrückstand wurde sammt dem in der Flüssigkeit suspendirten Niederschlag bei durch Natriumcarbonat alkalisch erhaltener Reaction im Wasserbad eingeengt — bei Verwendung von etwa 2 kg. feuchten Fibrins, Muskelfleisch etc. auf etwa 500 cbcm. — und mit etwa dem 3fachen Volumen Alkohol von 95 % vermischt, nach 24stündigem Stehen von dem unlöslichen Rückstande A, der im Wesentlichen aus Resten von unverändertem Eiweiss, Salzen und Bacterien besteht, daneben öfters kleine Mengen Pepton enthält, abfiltrirt, mit Alkohol nachgewaschen.

Aus der alkoholischen Lösung B wurde der grösste Theil des Alkohols durch Eindampfen auf dem Wasserbade entfernt, dabei stets die Reaction durch Zufügung von Natriumcarbonat alkalisch erhalten. Der beim Erkalten seifenartig erstarrende Rückstand wurde unter Erwärmen in Wasser aufgenommen, die trübe Lösung mit Schwefelsäure in grossem Ueberschuss versetzt — bei Verwendung von 2 kg. feuchten Materials, etwa 150 gr. concentrirte Schwefelsäure mit dem mehrfachen Volumen Wasser verdünnt — und 3—4mal mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt[1]). Die Extraction

---

[1]) In der schwefelsauren Lösung bilden sich dabei ausnahmslos, bald in grösserer, bald in geringerer Menge harzartige Niederschläge



Schema der Verarbeitung des Destillationsrückstandes.
Der Destillationsrückstand mit Na_2CO_3 alkalisirt, eingedampft, mit Alkohol gefällt.
Fällung A (ungelöstes Eiweiss, Salze).
Alkoholische Lösung B eingedampft, mit SO_4H_2 und Aether.
Aetherauszug I verdunstet, mit NaHO alkalisirt, mit Aether geschüttelt.
Schwefelsäurehaltige wässerige Lösung II.
Aetherauszug a.
Alkalische Lösung b, mit $BaCl_2$ gefällt, filtrirt.
Filtrat 1 mit HCl und Aether.
Fällung 2 Barytseifen.
Saure wässerige Lösung α.
Aetherauszug β, verdunstet, mit Wasserdampf destillirt.
Flüchtig: Fettsäuren, Homologe der Benzoësäure. (Spuren von Phenol.)
Nichtflüchtig: Oxysäuren, Skatolcarbonsäure, Bernsteinsäure.

mit Aether bietet oft bedeutende Schwierigkeiten, durch die dabei stattfindende Emulsionsbildung[1].) Auch durch Zusatz von Alkohol ist die vollständige Trennung des Aethers von der wässerigen Lösung nicht immer zu bewirken, öfters blieb nichts anderes übrig, als das Magma zu erwärmen, wobei dann Trennung bis auf Reste eintrat. Der alkoholhaltige Aether B I nimmt Fette, sämmtliche Säuren und eine gewisse Gruppe von basischen Substanzen auf, während andere basische Körper, Leucin und Pepton, falls dieses vorhanden, in der wässerigen schwefelsäurehaltigen Lösung B II bleiben.

Der Aether hinterlässt beim Abdestilliren ein Gemisch der genannten Substanzen in Form eines sauer reagirenden Oeles, aus welchem zunächst höhere fette Säuren und etwa vorhandenes Fett entfernt werden müssen. Zu diesem Zweck wurde der Aetherrückstand mit Natronlauge alkalisirt, wobei sich häufig eine gewisse Quantität Natronseifen der höheren Fettsäure ausschied. Die hiervon abgetrennte Lösung wurde zur Entfernung etwa vorhandenen Fettes und anderweitiger Verunreinigungen mit Aether geschüttelt, dann mit Chlorbaryum gefällt. Oefters — und namentlich in den späteren Versuchen regelmässig — wurde, da der Aether B Ia aus der alkalischen Lösung nur sehr wenig aufnahm, ein etwas anderer Gang eingeschlagen. Die Natronseifen wurden durch Erwärmen in Lösung gebracht und die alkalische Lösung des «sauren Oeles» ohne Rücksicht auf Trübung durch Fett heiss mit Chlorbaryum gefällt, der entstehende Niederschlag B I b2 von Barytseifen (und Baryumcarbonat) reisst Fett etc. mit und bewirkt eine vollständige Klärung der Flüssigkeit. Dieselbe wird nunmehr filtrirt, das Filtrat B I b1 durch Ein-

---

Nach dem oberflächlichen Abspülen lösen sich diese harzigen Massen in Wasser, namentlich beim Erwärmen; die wässerige Lösung gibt beim Ansäuern mit Essigsäure und Zusatz von concentrirter Kochsalzlösung, resp. Kochsalz in Substanz einen Niederschlag, der alle der Hemialbumose zukommende Reactionen zeigt. Dieselbe scheint demnach — in kleinen Mengen — ein constantes Produkt der Fäulniss zu sein.

[1]) Dieselbe lässt sich vermeiden, wenn man die alkoholische Lösung verdunstet und nochmals mit absolutem Alkohol aufnimmt, doch ist dieses Verfahren nur ausnahmsweise befolgt.

dampfen concentrirt und von Alkoholresten befreit, auf's Neue mit Salzsäure angesäuert und mit reinem alkoholfreien Aether ausgeschüttelt. Der Aether nimmt nur Säuren auf, (B I $b^{1\beta}$), während basische Substanzen als Salzsäureverbindungen in der wässerigen Lösung (B I $b^{1\alpha}$) bleiben.

Aus dem beim Verdunsten der Aetherlösung (B I $b^{1\beta}$) bleibenden Säuregemisch wurden nun die flüchtigen fetten und aromatischen Säuren durch einen überhitzten Wasserdampfstrom entfernt, die sauren Dämpfe sofort in Natronlauge eingeleitet. Zur vollständigen Austreibung der flüchtigen Säuren sind bei Verarbeitung von 2 kg. feuchten Materials etwa 36 Stunden erforderlich. Man erkennt diesen Punkt sehr leicht daran, dass vorgelegtes, schwach alkalisches Wasser seine alkalische Reaction bewahrt.

Die nach Abtreibung der flüchtigen Säure im Destillationskolben befindliche Lösung, welche nun also noch die Skatolcarbonsäure, Oxysäure und Bernsteinsäure enthält, trübt sich allmälig beim Erkalten und setzt etwas harzige Substanz ab. Sie muss filtrirt werden, sobald die Trübung sich soweit verdichtet hat, dass die Filtration möglich ist (nach einigen Stunden). Aus dem klaren Filtrat setzen sich dann bei 24 stündigem Stehen in der Kälte, am besten im Eisschrank, kreidige weisse Körnchen von reiner Skatolcarbonsäure ab, besonders rein bei der Verwendung von Fibrin. Versäumt man den richtigen Zeitpunkt der Filtration, so vermengt sich die Skatolcarbonsäure mit den harzigen Massen und ist dann schwer zu trennen. Durch Einkochen der wässerigen von der Skatolcarbonsäure getrennten Lösung auf das halbe Volumen im Kolben ist oft noch eine neue Ausscheidung von Skatolbarbonsäure zu erhalten, nie ist sie indessen vollständig, ein Theil bleibt stets mit den Oxysäuren und der Bernsteinsäure zusammen in der Flüssigkeit gelöst.

Zur Gewinnung weiterer Antheile wurde die wässerige Lösung mit nicht zu grossen Mengen reinen Aethers geschüttelt, welcher Skatolcarbonsäure und Oxysäuren leicht aufnimmt, die Bernsteinsäure dagegen grösstentheils in der wässerigen Lösung zurücklässt; ein Theil derselben geht allerdings auch

in den ätherischen Auszug über. Concentrirt man denselben durch Destillation, so scheidet sich eine neue Quantität Bernsteinsäure ab und lässt sich durch Abgiessen des Aetherauszuges etc. erhalten.

Aus dem bei völligem Verdunsten der Aetherlösung bleibenden mehr oder weniger roth gefärbten Rückstand ist eine weitere Quantität Skatolcarbonsäure nur schwierig zu gewinnen. Behandelt man ihn mit lauwarmen Wasser, so bleibt ein gewisser Antheil der Säure ungelöst. Dampft man die davon abgetrennte Lösung im Vacuum neben Schwefelsäure ein, und behandelt wiederum mit Wasser, so erhält man auf's Neue eine gewisse Quantität der Substanz, eine beträchtliche Quantität der Säure geht jedoch in die wässerige Lösung über, wie sich durch Reactionen erkennen lässt. Die Lösungen nehmen übrigens auch bei dieser schonenden Behandlung mehr und mehr gesättigte Purpurfarbe an[1]) unter gleichzeitigem Auftreten des Geruchs nach Skatol.

Zur Reinigung löst man die erhaltene Rohsäure zweckmässig zuerst einmal in Aether, welcher etwa beigemischte harzige Massen fast ganz ungelöst zurücklässt (ist die Säure körnig, so thut man gut, sie vorher zu zerreiben, da sie sonst von Aether schwer gelöst wird), verdunstet die Aetherlösung und krystallisirt den Rückstand aus heissem Wasser und heissem Benzol um, in welch' letzterem die Säure ziemlich schwer löslich ist.

So dargestellt, bildet die Säure Krystallblättchen, die sich leicht in Alkohol und Aether, sehr wenig in Wasser lösen. Leichter löslich ist die Säure in heissem Wasser, beim Erkalten scheidet sich der grösste Theil der Säure wieder aus, jedoch reagirt auch die kalte Lösung stark sauer.

Die Analyse ergab für die über Schwefelsäure getrocknete Säure folgende Zahlen:

1. 0,1356 gr. gab 0,3416 gr. CO_2 und 0,0701 gr. H_2O = 68,70% C und 5,74% H.

---

[1]) Brieger erwähnt Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. III, S. 146, dass die säurehaltigen Aetherauszüge aus Fäulnissmischungen beim Verdunsten Purpurfarbe annehmen.

2. 0,1528 gr. gab 0,3856 gr. CO_2 und 0,0790 gr. H_2O = 68,82% C und 5,74% H.
3. 0,2011 gr. gab 13,6 cbcm. feuchter Stickstoff bei 18,4° C. und 746,8 mm. Bar. = 7,66% N.

Die Zahlen stimmen hinreichend zu der Formel

$C_{10}H_9NO_2$.

	Berechnet:	Gefunden: 1.	2.	3.
C	68,57	68,70	68,82	—
H	5,14	5,74	5,74	—
N	8,00	—	—	7,66

Die Säure ist einbasisch, wie aus Folgendem hervorgeht:

0,4076 gr. in Wasser suspendirt und mit 1/4 Normalnatron titrirt, erforderte 9,1 cbcm. bis zur neutralen Reaction.

Unter der Annahme der Bildung von $C_{10}H_8NaNO_2$ wären nothwendig gewesen, 9,32 cbcm. 1/4 Normalnatronlauge. Die Uebereinstimmung ist eine genügende. 0,1440 gr. skatolcarbonsaures Silber $C_{10}H_8AgNO_2$, durch Fällung des Ammonsalzes mit concentrirter Silbernitratlösung, Waschen des weissen schwerlöslichen Niederschlages, Abpressen, Trocknen über Schwefelsäure erhalten, gab beim Glühen 0,0555 gr. Silber.

Daraus ergibt sich:

	Berechnet:	Gefunden:
Ag	38,30%	38,54%

Der Schmelzpunkt wurde bei 164° gefunden. Erhitzt man die Säure im Röhrchen ein wenig über den Schmelzpunkt, so zersetzt sie sich unter Gasentwickelung und Bildung eines schnell erstarrenden Destillates im oberen Theil der Röhre. Das Gas ist Kohlensäure, das Sublimat reines Skatol. Indol ist in denselben nicht nachweisbar, die Skatolcarbonsäure ist also nicht von einer Indolcarbonsäure begleitet.

Auch beim Verdampfen der wässerigen Lösung tritt, wie bereits früher erwähnt, Zersetzung ein unter Auftreten von Skatolgeruch und Bildung von purpurrothem, resp. violettem Farbstoff, offenbar Condensationsprodukte des Skatols. Diese Zersetzung tritt aber nur in unreinen Lösungen ein, reine Lösungen lassen sich ohne wahrnehmbare Zersetzung ein-

dampfen. Führt man die Verdampfung im Kolben mit Kühler aus, so gibt das Destillat mit salpetriger Säure kaum merkliche röthliche Färbung. Ebenso gering ist die Färbung des Destillates, wenn man die Skatolcarbonsäurelösung vorher mit Salzsäure angesäuert oder mit Natronlauge alkalisirt hat. Lässt man indessen die wässerige Lösung der Säure längere Zeit stehen, so zersetzt sie sich partiell unter allmäliger Ausscheidung eines pulverigen bräunlichen Niederschlages. Die neutrale Lösung des Natriumsalzes hält sich beim Stehen anscheinend ganz unverändert.

Die Salze der Skatolcarbonsäure sind der kleinen zu Gebote stehenden Menge wegen nur sehr unvollständig untersucht. Die Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, von neutraler Reaction. Ueber das Verhalten dieser Salze zu Metallsalzen haben wir Folgendes ermittelt:

Neutrale Lösungen von 1 ‰ Gehalt an Skatolcarbonsäure geben mit neutralem Bleiacetat langsam sich ausscheidenden krystallinischen Niederschlag:

Mit Kupferacetat, Quecksilberchlorid, Eisenchlorid, Silbernitrat nichts oder nur leichte Trübungen.

Aus der Quecksilberchlorid enthaltenden Mischung scheidet sich bei vorsichtigem Zusatz von ganz verdünnter Natronlauge ein grau-weisser Niederschlag aus.

Sehr charakteristisch und eigenthümlich ist das Verhalten der mit sehr verdünnter Eisenchloridlösung versetzten und in der Kälte nicht veränderten 1promilligen Lösung beim gelinden Erwärmen, sie wird dabei schmutzig grau-blau oder genauer ausgedrückt, in durchfallendem Lichte blauroth und trüb, in auffallendem weisslich-grau. Säuert man die Reactionsmischung vorsichtig mit Salzsäure an, so schlägt sich alsbald ein grau-violetter Farbstoff nieder, der auf dem Filter gesammelt und ausgewaschen, sich in Alkohol leicht mit blau-rother Farbe löst. Dieses Verhalten ist sehr charakteristisch und als Reaction auf Skatolcarbonsäure zu brauchen. Es lässt sich auch verwerthen, um Oxysäure von anhängender Skatolcarbonsäure zu befreien.

Weit intensivere Farbenerscheinungen lassen sich durch Eisenchlorid hervorrufen, wenn man etwas anders verfährt: Säuert man nämlich die Lösung der Skatolcarbonsäure und ihrer neutralen Salze von vornherein mit einigen Tropfen Salzsäure an, fügt dann sehr verdünnte Eisenchloridlösung hinzu und erhitzt zum Sieden, so färbt sich die Flüssigkeit kirschroth.

Zur Erkennung der Skatolcarbonsäure lässt sich sowohl die Eisenchloridreaction (und zwei andere in der folgenden Abhandlung beschriebenen Reactionen), als auch die Spaltung der Säure beim Erhitzen verwerthen.

Handelt es sich darum, die bei der Fäulniss erhaltenen Oxysäuren, deren constanter Begleiter die Säure ist, auf Skatolcarbonsäure zu prüfen, so erhitzt man eine kleine Probe derselben in einem Röhrchen über 150°, zerschneidet das Röhrchen, bringt es in ein kleines Kölbchen, welches etwas verdünnte Natronlauge enthält, und destillirt. Mit den Wasserdämpfen geht Skatol in Substanz über oder es bleibt — bei sehr kleinen Mengen — im Destillat gelöst. Selbstverständlich geben die rohen Oxysäuren auch die Reactionen der Skatolcarbonsäure.

In faulenden Flüssigkeiten lässt sich die Skatolcarbonsäure leicht nachweisen, indem man aus 30—50 cbcm. durch Eindampfen auf etwa $1/5$ des Volumens Indol und Skatol entfernt, dann ansäuert[1]) und mit Aether schüttelt. Der Aether giebt beim Schütteln mit ganz schwacher Natriumcarbonatlösung die Säure an die alkalische Lösung ab.

Was das Vorkommen der Skatolcarbonsäure unter den Fäulnissprodukten betrifft, so haben wir sie ausnahmslos in allen unseren Versuchen constatirt, seitdem wir auf ihre Existenz aufmerksam geworden sind.

---

[1]) Enthalten die Flüssigkeiten nach dem Eindampfen noch viel Eiweiss, so kann man direkt mit Eisessig ansäuern (gleiches Volumen), die Abtrennung des Aethers wird dann durch das gallertige Acidalbumin sehr erleichtert.

Es sind im Ganzen fünfzehn Versuche:

5 Versuche	mit Fibrin	von	4—38 Tagen Dauer.
6 «	« Fleisch	«	7—70 « «
2 «	« Serumalbumin	«	39 Tagen Dauer.
2 «	« Pankreaspepton	«	7, resp. 12 Tagen Dauer.

In allen Fällen bis auf drei, ist die Säure in Substanz dargestellt, Schmelzpunkt, Skatolabspaltung etc. constatirt, in den erwähnten drei Fällen ist sie durch die Abspaltung von Skatol beim Erhitzen der skatolfreien Oxysäuren nachgewiesen.

Auf die Mengenverhältnisse ist nur in einigen Versuchen genauer geachtet. Am grössten war die Ausbeute in einem Fäulnissversuch von 26 tägiger Dauer der Fäulniss (Nr. 5[1]) mit 2 kg. feuchtes Fibrin = 406 gr. trocken, wovon 397,7 gr. in Lösung gegangen. Derselbe ergab:

1. 0,726 gr. reine Skatolcarbonsäure vom Schmelzpunkt 164°.
2. Aus der Mutterlauge 0,3626 gr. skatolhaltig und oxysäurehaltig.

Die Oxysäurelösung, aus welcher sich die Skatolcarbonsäure abgeschieden hatte, enthielt nach den Reactionen noch reichlich Skatolcarbonsäure. Sie wurde auf's Neue mit Aether ausgeschüttelt, der Aetherauszug verdunstet und in einem Siedekölbchen, das sich in einem Oelbade befand, auf 170 bis 180° erhitzt, dann noch etwa 3/4 Stunden auf dieser Temperatur erhalten, um eine völlige Spaltung der Säure herbeizuführen. Aus dem Rückstand wurde nach starkem Zusatz von Natronlauge durch einen Wasserdampfstrom das Skatol übergetrieben. Aus dem Destillat schied sich Skatol in Blättchen ab, dessen Gewicht nach dem Trocknen über Schwefelsäure 0,250 gr. betrug (Schmp. 94°).

Aus dem Filtrat von den Blättchen ergab Ausschütteln mit Aether etc. noch 0,0842 gr. ziemlich unreines Skatol. Rechnet man dieses zur Hälfte als Skatol, so ergab sich im Ganzen 0,292 gr. Skatol, entsprechend 0,389 gr. Skatolcarbonsäure. Nimmt man ebenso an, dass die oben erwähnte zweite Krystallisation von Skatolcarbonsäure gleichfalls auch nur zur Hälfte aus reiner Säure bestand, so berechnen sich im Ganzen 1,296 gr. Skatolcarbonsäure = 3,19‰ des ange-

[1]) Vgl. die Abhandlung in Bd. VIII dieser Zeitschrift, S. 432.

wendeten Eiweiss oder 3,25 ‰ des in Lösung gegangenen Eiweiss. Das in der Skatolcarbonsäure enthaltene Skatol beträgt 0,971 gr. = 2,39 ‰ des angewendeten Eiweiss. Aus leicht ersichtlichen Gründen sind diese Werthe noch als Minimalwerthe zu betrachten, die Quantität der im Eiweiss präformirten Skatolcarbonsäure ist vielleicht noch erheblich grösser.

In allen anderen Versuchen mit Fibrin war die Ausbeute weit geringer.

Sehen wir von dem Versuch 3 ab, in welchem wir die rein dargestellte Skatolcarbonsäure bestimmt (= 1,8 gr. aus ca. 8 kg. Fibrin), dagegen auf die in Lösung bleibende keine Rücksicht genommen wurde, so sind Bestimmungen noch ausgeführt in Versuch 1 und 4 (vergl. die citirte Mittheilung).

In Versuch 1 von vier Tagen Dauer wurde die Skatolcarbonsäure selbst in Substanz nicht erhalten, durch Spaltung aus der rohen Oxysäure 0,1301 gr. Skatol vom Schmelzpunkt 93° = 0,1737 gr. Skatolcarbonsäure.

In Versuch 4 von dreizehn Tagen Dauer wurde gleichfalls Skatolcarbonsäure in Substanz nicht erhalten (an Stelle derselben fand sich eine noch nicht näher untersuchte Säure von ganz abweichenden Reactionen und dem Schmelzpunkt 134°); aus den rohen Oxysäuren durch Spaltung erhalten 0,3444 gr. Skatol vom Schmelzpunkt 93° = 0,460 gr. Skatolcarbonsäure.

Die Menge der erhaltenen Skatolcarbonsäure nimmt also mit der Dauer der Fäulniss zu[1]).

Die Quantität der aus den anderen angewendeten Materialien, namentlich aus Muskelfleisch erhaltenen Skatolcarbonsäure stand der aus dem Fibrin gewonnenen erheblich nach, nur in einem Falle lieferten die aus 4 kg Fleisch erhaltenen rohen Oxysäuren 0,96 gr. Skatol. Zur Gewinnung der Skatolcarbonsäure eignet sich ausschliesslich das Fibrin, nicht allein

---

[1]) Ein Versuch mit 2 kg. Fibrin von 38 Tagen Dauer konnte leider nicht verwerthet werden, da die Darstellung der Skatolcarbonsäure nicht vorwurfsfrei verlaufen war.

wegen der relativen Reichlichkeit der Ausbeute, sondern auch, weil aus diesem Material die Säure leichter in reinem Zustand zu erhalten ist.

Es verdient wohl hervorgehoben zu werden, dass das Fibrin nach den in dem Versuch von 26 Tagen Dauer erhaltenen Daten nicht allein ungefähr 1 % Indol in seinem Molecül enthält, sondern auch noch ¼ % Skatol als Skatolcarbonsäure.

Zur Darstellung des Skatols aus Eiweiss dürfte sich kaum ein anderer Weg empfehlen, als der der langdauernden Fibrinfäulniss unter den früher angegebenen Bedingungen und Verarbeitung nach dem angegebenen Schema, bis man zu der wässerigen, Oxysäuren, Skatolcarbonsäure und Bernsteinsäure enthaltenden Lösung gelangt ist. Dieselbe wird dann mit Aether ausgeschüttelt, der Aetherauszug abdestillirt, der Rückstand in einem Siedekölbchen mindestens ¾ Stunden auf 170—180° erhitzt[1]), dann mit Natronlauge alkalisirt und das Skatol mit Wasserdampf abgetrieben. Wenn alles Skatol übergegangen ist, empfiehlt es sich in jedem Fall, den alkalischen Rückstand nochmals anzusäuern und mit Aether ausschütteln. Der Aether giebt häufig noch Reaction auf Skatolcarbonsäure und der Verdampfungsrückstand liefert dann, ebenso behandelt, noch einen zweiten Antheil Skatol.

Ist nun die Skatolcarbonsäure die Muttersubstanz des bei der Fäulniss auftretenden Skatols? Bei der Leichtigkeit, mit der sich namentlich aus unreiner Lösung Skatol beim Erwärmen abspaltet, wird man a priori gewiss geneigt sein, diese Frage zu bejahen. Die grosse Haltbarkeit der alkalischen Lösung, sowie der Umstand, dass die Menge der Skatolcarbonsäure mit der Dauer der Fäulniss zunimmt, erregen indessen von vornherein Bedenken an der Richtigkeit dieser Annahme. In der That hat sich die Skatolcarbonsäure unerwarteter Weise als eine gegen die Wirkung der Bacterien sehr widerstandsfähige Substanz erwiesen.

5 gr. Natriumkaliumtartrat, 2 gr. Ammoniumtartrat, 0,25 gr. Monokaliumphosphat, 0,125 gr. Magnesiumsulfat,

---

1) Ein kleiner Theil des Skatols geht hierbei schon über.

1 Liter Leitungswasser von 42° und 4 cbcm. concentrirte Lösung von Natriumcarbonat wurden gemischt, 0,4031 gr. Skatolcarbonsäure an Natron gebunden, zugesetzt, dann noch 2 cbcm. faulende Fleischmaceration und die Mischung bei 42° in einer zur Hälfte gefüllten Glasstöpselflasche aufbewahrt. Zur Untersuchung auf Skatol, resp. Indol wurden je 20 cbcm. abgenommen und destillirt. Dieses geschah nach 1, 3, 6, 9, 12 × 24 Stunden, jedoch stets mit negativem Erfolg: Im Destillat war weder Indol noch Skatol nachweisbar, dagegen gab die rückständige Flüssigkeit unverändert starke Reaction auf Skatolcarbonsäure.

Nun war es wohl denkbar, dass unter den Spaltpilzen der Fleischmaceration nur ganz bestimmte die Fähigkeit besitzen, die Skatolcarbonsäure zu spalten und dass diese die Bedingungen des Gedeihens in der Versuchsflüssigkeit nicht finden.

Gegen diese Annahme spricht nicht unbedingt, dass uns früher in derselben Mischung mit den Spaltpilzen der Fleischmaceration die Spaltung des Tyrosins (nach Baumann) leicht gelungen ist, denn es handelt sich beim Tyrosin um einen Körper von ganz anderer Constitution.

Es wurde daher dem oben erwähnten Gemisch nach Ablauf von 12 Tagen eine faulende Mischung, bestehend aus 100 gr. Fleisch, 400 cbcm. Wasser, 10 cbcm. concentrirte Natriumcarbonatlösung, die am Tage vorher mit faulender Fleischmaceration geimpft war, zugesetzt und die ganze Mischung bei 42° weiter digerirt. Die Untersuchung kleiner Antheile an den folgenden Tagen ergab geringe Mengen von Indol, jedoch so wenig, dass man es ohne Zwang auf das faulende Fleisch beziehen konnte, der Destillationsrückstand gab unverändert starke Reaction auf Skatolcarbonsäure. Nachdem das Gemisch noch weitere 15 Tage, im Ganzen also 27 Tage gestanden hatte, wurde es in der gewöhnlichen Weise verarbeitet.

Es wurde erhalten:
Indol 0,0280 gr.

Skatolcarbonsäure: erste Krystallisation über SO_4H_2 getrocknet 0,161 gr., Schmelzpunkt 164°; zweite Krystallisation 0,181 gr., Schmelzpunkt ungefähr 140°, noch stark oxysäurehaltig. Die Mutterlauge enthielt noch reichlich Skatolcarbonsäure. Erwägt man, dass wiederholt Proben zur Untersuchung abgenommen, sowie dass man natürlich nicht darauf rechnen kann, die zugesetzte Säure quantitativ wiederzuerhalten, so wird man wohl mit Bestimmtheit schliessen müssen, dass die Säure überhaupt nicht zersetzt ist: Dementsprechend sind auch die erwarteten Zersetzungsprodukte, Skatol oder Indol nicht aufgetreten.

Es ist nun aber nicht zu verkennen, dass die Bedingungen dieses Versuches andere sind, als wenn die Skatolcarbonsäure aus dem Eiweiss selbst frei wird, sie kann im Zustande der Entstehung sehr wohl weiteren Zersetzungen unterliegen, auch wenn die fertige Säure nicht angegriffen wird. Ja es ist einigermassen unwahrscheinlich, dass ausser der Skatolcarbonsäure auch noch eine Skatol- und eine Indolgruppe im Eiweissmolekül präformirt ist, viel leichter kann man sich vorstellen, dass nur Skatolcarbonsäure präformirt ist, Indol und Skatol erst secundär daraus hervorgehen oder auch, dass der höher zusammengesetzte Atomcomplex, in welchem sowohl die Skatolcarbonsäure, als auch das Skatol, resp. Indol enthalten sind, eine Spaltung nach *verschiedenen Richtungen* erfährt. Irgendwelche ausschlaggebende Gründe für die eine oder andere Anschauung lassen sich bisher nicht geltend machen.

Der Umstand, dass die Skatolcarbonsäure geruchlos ist, legte die Möglichkeit nahe, dass die Säure vielleicht schon durch die Trypsinwirkung abgespalten wird. Allein die wiederholt hierauf gerichteten Versuche, bei denen sowohl das ausgeschiedene Tyrosin untersucht wurde, in dem sich möglicherweise Skatolcarbonsäure verbergen mochte, als auch die davon befreite Lösung, ergaben nur negative Resultate, sodass diese Möglichkeit wohl ausgeschlossen ist.

Die zur Untersuchung eingeschlagenen Wege ergeben sich aus den vorhergehenden Erörterungen von selbst, sodass wir

auf eine genaue Beschreibung derselben wohl verzichten können; allerdings muss hierzu noch bemerkt werden, dass diese Versuche zu einer Zeit angestellt wurden, in der wir mit den Reactionen der Skatolcarbonsäure (siehe die folgende Abhandlung) noch nicht genauer bekannt waren. Das Vorkommen minimaler Mengen von Skatolcarbonsäure in den Trypsin-Verdauungsgemischen wäre immerhin noch möglich, aus leicht ersichtlichen Gründen könnte aber auf solche Spuren wenig Werth gelegt werden.

Ueber das Verhalten der Skatolcarbonsäure im Organismus.

Von

Prof. E. Salkowski in Berlin.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 24. Juli 1884.)

Die Skatolcarbonsäure ist, wie die in der vorstehenden Arbeit mitgetheilten Untersuchungen von meinem Bruder und mir zeigen, ein constantes Produkt einer jeden, wenigstens einer jeden längerdauernden Fäulniss des Eiweiss. Es liegt daher die Möglichkeit nahe, dass sie sich während des Lebens im Darmkanal, sei es physiologisch, sei es pathologisch, vielleicht auch an anderen Körperstellen unter pathologischen Verhältnissen bildet. Die von uns nachgewiesene grosse Resistenz der einmal gebildeten Skatolcarbonsäure gegen die Wirkung der Bacterien lässt andererseits vermuthen, dass die Säure vom Darmkanal oder pathologisch von anderen Stellen des Körpers aus resorbirt, als solche im Harn erscheinen möchte.

Von diesem Gesichtspunkte aus stellte ich zunächst einige Versuche über das Verhalten von eingegebener Skatolcarbonsäure an.

Bevor ich über diese berichte, muss ich einige Reactionen etwas eingehender beschreiben, zu denen mich die weitere Beschäftigung mit der Säure geführt hat und welche die Aufsuchung der Säure und ihre Verfolgung im Organismus ausserordentlich erleichtern. Die Skatolcarbonsäure zeigt zwei in der wässerigen Lösung der Säure und ihrer Alkalisalze eintretende sehr schöne Reactionen:

a) mit Salpetersäure + Kaliumnitrit (salpetriger Säure).

b) mit Salzsäure + Chlorkalk (unterchloriger Säure).

Dazu kommt dann noch die bereits in der vorigen Mittheilung erwähnte Reaction mit Eisenchlorid, über die ich noch einige genauere Daten mitzutheilen habe.

a) Versetzt man eine Lösung der Säure 1:1000 mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure (von 1,2 specif. Gew.), dann mit wenigen Tropfen Kaliumnitritlösung (2 proc.), so färbt sich die Lösung ziemlich schnell kirschroth, trübt sich dann unter Ausscheidung eines rothen Farbstoffs; der gebildete Farbstoff geht beim Schütteln mit Essigäther in diesen über: nach einmaliger Erneuerung des Essigäthers ist die wässerige Lösung in der Regel vollständig entfärbt. Die Essigätherlösung zeigt bei der spektroskopischen Untersuchung, eventuell nach weiterer Verdünnung, einen Absorptionsstreif im Grün. Beim Zusatz von Natronlauge wird die Essigätherlösung entfärbt, während die Natronlauge selbst intensiv gelb erscheint; säuert man nun mit Salzsäure an, so tritt die rothe Färbung der Essigätherlösung wieder hervor.

Noch leichter wie in Essigäther geht der rothe Farbstoff in Amylalkohol über, dagegen durchaus nicht in Aether, Benzol, Chloroform.

Noch in Verdünnungen von 1:10000 tritt die Reaction bei vorsichtigem Zusatz von Kaliumnitrit sehr schön ein, nur bleibt in diesem Falle der Farbstoff in Lösung. Ein Ueberschuss von Kaliumnitrit lässt die Reaction entweder gar nicht aufkommen oder zerstört den Farbstoff sehr schnell.

Auch die verdünnte ätherische Lösung der Säure zeigt die Reaction mit NO_3H und KNO_2 beim Umschütteln, weniger gut und nur vorübergehend (aus leicht ersichtlichen Gründen) die alkoholische.

Der Verlauf der Reaction erinnert an die Indolreaction, es lässt sich indessen leicht zeigen, dass der gebildete rothe Farbstoff nicht salpetersaures Nitrosoindol ist.

Erwärmt man nämlich die alkoholische Lösung des salpetersauren Nitrosoindol nach dem Zusatz des gleichen Volumens Wasser mit etwas Natronlauge und Zinkstaub, so wird sie alsbald entfärbt, das Filtrat färbt sich jedoch an

der Luft unter Sauerstoffaufnahme intensiv blau, besonders beim Umschütteln (mitunter ist es auch sofort blau).

Die alkoholische Lösung des erwähnten, mit Wasser gewaschenen Niederschlages wird gleichfalls durch Natronlauge und Zinkstaub entfärbt, bleibt jedoch an der Luft und beim Umschütteln stets farblos, eine Blaufärbung tritt niemals ein.

b) Versetzt man die wässerige Lösung der Säure (1:1000) oder eines neutralen Salzes mit dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,2 spec. Gew., dann mit einigen Tropfen schwacher (1—2 proc.) Chlorkalklösung, so färbt sie sich allmälig purpurroth, bei längerem Stehen scheidet sich ein purpurrother, in Alkohol leicht löslicher Niederschlag aus. Auch stärker verdünnte Lösungen (1:10000) zeigen diese Reaction, die sich dann auf Färbung ohne Niederschlag beschränkt, jedoch muss man mit dem Zusatz von Chlorkalklösung sehr vorsichtig sein, auch scheint die Reaction nicht ganz so empfindlich zu sein. Das Verhalten des Farbstoffs zu Amylalkohol einerseits, Aether, Benzol, Chloroform andererseits beim Schütteln der Reactionsmischungen damit, ist ebenso, wie die des unter a) beschriebenen, nur das Verhalten zu Essigäther ist abweichend und je nach den Concentrationsverhältnissen etwas wechselnd: der Farbstoff wird in jedem Fall schwierig, mitunter fast gar nicht von Essigäther aufgenommen.

c) Die Eisenchloridreaction übertrifft die vorstehend beschriebenen Reactionen noch bedeutend an Feinheit, erheischt aber gleichfalls ein sehr sorgfältiges Vorgehen, welches einigermassen von der Concentration der Lösung abhängt.

Versetzt man eine Lösung von 1:10000 mit einigen Tropfen Salzsäure, dann mit 2 bis 3 Tropfen einer ganz dünnen Eisenchloridlösung (die verwendete enthielt 2 cbcm. Liquor ferri sesq. Ph. G. auf 100 cbcm. Wasser) und erhitzt, so färbt sich die Mischung noch vor dem Sieden intensiv violett.

Lösungen von 1:100000 zeigten die Reaction noch sehr ausgeprägt und unverkennbar, nur muss der Eisenchlorid-

zusatz noch geringer gewählt werden. Macht man die Reaction mit stärkeren Lösungen (1:1000), so tritt eine intensive Kirschfarbe auf; der Salzsäurezusatz muss hierbei etwas grösser gewählt werden, ebenso der Zusatz von Eisenchlorid.

Selbstverständlich gelten diese Vorsichtsmassregeln nur, wenn man die intensivsten Färbungen mit einer gegebenen Lösung erzielen will, verfehlen wird man die Reaction nicht, wenn man auch weniger sorgfältig verfährt, nur ist sie dann oft vorübergehend; in jedem Fall empfiehlt es sich aber, nur sehr dünne Eisenchloridlösung anzuwenden und mit dem Zusatz derselben vorsichtig zu verfahren.

Von Amylalkohol wird wiederum, wie in den anderen Fällen der Farbstoff beim Schütteln sehr leicht und vollständig aufgenommen, von Aether, Benzol Chloroform nicht. Das Verhalten zu Essigäther ist dagegen wechselnd und abhängig von der Concentration der Farbstofflösung. Ist sie concentrirt, so nimmt Essigäther rothen Farbstoff auf, ist sie dagegen verdünnter (1:10000), so färbt sich der Essigäther gelb bis roth-gelb, während die violette Farbe der wässerigen Lösung an Reinheit zunimmt, in keinem Falle aber gelingt es, allen Farbstoff in die Essigätherlösung überzuführen.

Da alle zu den Farbenreactionen angewendeteten Reagentien Oxydationsmittel sind, die entstandenen Farbstoffe auch einander sehr ähnlich aussehen, so liegt es sehr nahe, anzunehmen, dass es sich dabei stets um Bildung desselben Farbstoffs handelt, welcher vielleicht auch mit dem bei der spontanen Oxydation der Skatolcarbonsäure entstehenden Farbstoff identisch ist. Dagegen spricht aber einigermassen das verschiedene Verhalten der Farbstoffe zu Essigäther; mindestens muss man annehmen, dass nicht ein Farbstoff, sondern ein Gemisch solcher bei der Oxydation entsteht. Da es mir zunächst nur darauf ankam, die besprochenen Farbenerscheinungen zur Erkennung der Skatolcarbonsäure zu verwerthen, habe ich diese Frage nicht weiter verfolgt.

Ich lasse nunmehr zunächst die über das Verhalten eingegebener Skatolcarbonsäure angestellten Versuche folgen.

Versuch I. 0,4076 gr. Skatolcarbonsäure wurden in Wasser suspendirt, durch Zusatz von 1/4 Normalnatron zur neutralen Reaction und Erwärmen in Lösung gebracht, die Lösung auf 50 cbcm. verdünnt; 25 cbcm. davon am 13./4 und ebensoviel am 14./4 einem Kaninchen von etwa 2 kg. Körpergewicht mittelst Schlundsonde in den Magen gebracht.

Schon $1^{1}/_{2}$ Stunden nach der ersten Einspritzung liess das Thier Harn; durch die Reactionen mit $FeCl_3 + HCl$, $NO_3H + KNO_2$ und $HCl + CaO_2Cl_2$ war Skatolcarbonsäure in diesem direkt nachweisbar. Vor der Einspritzung gab der Harn diese Reactionen nicht. Die Reaction nahm in den später entleerten Harnportionen an Intensität ausserordentlich zu, in dem Harn vom 16. war sie nur noch schwach, in dem Harn vom 17. (also am 18.) nicht mehr zu constatiren.

Der Harn erwies sich ausserdem eiweisshaltig und zwar in ziemlich erheblichem Grade bis zum 19.; der am 27./4 untersuchte Harn wurde wieder frei von Eiweiss gefunden.

Die ganze vom 13. Mittags bis 17. Mittags entleerte Harnmenge (abgesehen von den abgenommenen Proben) wurde eingedampft, mit absolutem Alkohol ausgezogen, der Rückstand einstweilen aufbewahrt, der Alkoholauszug verdunstet, in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt, der Aetherauszug verdunstet, der Rückstand mit heissem Wasser behandelt, filtrirt. Das Filtrat mit Na_2CO_3 alkalisirt und zur Entfernung von Verunreinigungen mit Aether geschüttelt, alsdann eingedampft, der Rückstand in absolutem Alkohol gelöst, der filtrirte Auszug mit dem gleichen Volumen Aether versetzt, wodurch gleichfalls Verunreinigungen entfernt werden, schliesslich die alkoholisch-ätherische Lösung verdunstet, mit Salzsäure angesäuert und mit Aether geschüttelt. Bei diesem etwas complicirten Gang liess ich mich durch die charakteristischen Reactionen der Säure leiten.

Der Aetherauszug erstarrte beim Erkalten krystallinisch. Durch Umkrystallisiren aus Benzol und Wasser wurde erhalten Skatolcarbonsäure:

1. Fraction .	0,042 gr.
2. « .	0,024 «
zusammen	0,069 gr.

Beide Fractionen zeigten den Schmelzpunkt 160°, durch Erhitzen wurde Skatol vom Schmelzpunkt 91° abgespalten. Die restirenden Lösungen zeigten noch starke Reactionen auf Skatolcarbonsäure. — Der vom Alkohol nicht gelöste Rückstand wurde zu einer annähernden Bestimmung der ausgeschiedenen Quantität Eiweiss benutzt. Er wurde mit Wasser übergossen und längere Zeit unter Zusatz von etwas Essigsäure auf dem Wasserbade erhitzt, dann auf einem gewogenen Filter gesammelt, gut gewaschen, u. s. w. Nach Abzug der Asche betrug sein Gewicht 0,4032 gr., die sich auf die Urinentleerung von vier Tagen ver-

theilen. Nimmt man für die Harnentleerung eines Tages rund 100 cbcm, so beträgt der Gehalt des Harns an Albumin 0,1%, ist also zwar gering, aber doch nicht unerheblich.

Für die Skatolcarbonsäure ergiebt sich aus dem Versuch, dass sie den Organismus ohne eine Zersetzung zu erfahren, durchläuft. Immerhin war es aber sehr auffallend, dass ein — auch bei Berücksichtigung des Umstandes, dass wiederholt Proben des Harns zu qualitativen Versuchen abgenommen waren, doch immer nur — verhältnissmässig kleiner Theil wieder dargestellt werden konnte. Dieser Umstand konnte sowohl auf der Zersetzung eines Theiles der Säure beruhen, als auch auf Mängeln der Methode der Gewinnung aus dem Harn, letzteres um so eher, als der Versuch der erste war, (die dritte Möglichkeit — mangelhafte Resorption — konnte bei einer so leicht löslichen Substanz, wie das Natriumsalz der Säure es ist, wohl ausgeschlossen werden). Zwischen diesen beiden Möglichkeiten zu entscheiden, gab es verschiedene Wege. Am nächsten hätte es gelegen, dieselbe Quantität Säure oder eine annähernd ebenso grosse dem 4-tägigen Harn desselben Kaninchens bei derselben Fütterung zuzufügen und die Wiederdarstellung zu versuchen. Die Kostbarkeit der Substanz liess mich von diesem Versuche abstehen, es wurde vielmehr das Verhalten kleinerer Mengen zugeführter Skatolcarbonsäure untersucht.

Versuch II. 0,119 gr. Skatolcarbonsäure wurde als Natriumsalz einem Kaninchen bei Kartoffelfütterung in den Magen gebracht.

Der im Lauf der nächsten 48 Stunden gesammelte Harn gab unzweifelhafte Reactionen auf Skatolcarbonsäure, enthielt kein Eiweiss. Er wurde eingedampft, mit absolutem Alkohol ausgezogen, der Auszug verdunstet, mit Schwefelsäure angesäuert, mit Aether geschüttelt.

Der ätherische Auszug wurde mit Natriumcarbonatlösung geschüttelt, wobei sämmtliche Säure in die wässerige alkalische Lösung überging. Dieselbe wurde auf 100 cbcm. verdünnt. Diese Lösung enthielt unter der Voraussetzung, dass sämmtliche Säure resorbirt und unverändert ausgeschieden war, sowie dass bei der Verarbeitung keine Verluste stattgefunden hatten, etwas über 1‰ Skatolbarbonsäure. Die Reactionen dieser Lösung waren ebenso rein, aber nicht so stark wie die einer 1 promilligen Lösung. Der grösste Theil war somit sicher unverändert ausgeschieden.

Gegen die Beweiskraft dieses Versuches konnte der Zweifel geltend gemacht werden, ob die angeführten Reactionen für die Gegenwart der Skatolcarbonsäure vollkommen beweisend sind, ob sie nicht auch von anderen Skatolderivaten abhängen könnten. Diejenige Zersetzung der Skatolcarbonsäure, an welche man doch immer denken musste, ist die in Skatol und Kohlensäure. Das Skatol geht nach Brieger[1]) in Skatoxylschwefelsäure über und diese konnte möglicherweise ganz dieselben Reactionen geben, wie die Skatolcarbonsäure. Von einer Reaction ist ohnehin bekannt, dass sie, vielleicht nicht ganz ebenso, aber doch sehr ähnlich, auch dem nach Skatolfütterung entleerten Harn zukommt, nämlich die Reactionen mit Salzsäure + Chlorkalk (Brieger, l. cit.)

Es wurde daher der folgende Versuch angestellt;

Versuch III. Dasselbe Kaninchen, das zum vorigen Versuche gedient hatte, erhielt nach einer Pause von einigen Tagen 0,111 gr. Skatol — etwas mehr, als der Skatolcarbonsäure entspricht — in den Magen. (Das Skatol wurde in 3 cbcm. Alkohol gelöst und mit verdünnter warmer Lösung von Gummi arabicum auf 40 cbcm. gebracht. Das Skatol konnte so im Zustande sehr feiner Vertheilung eingeführt werden.) Der Harn der nächsten 48 Stunden wurde gesammelt. Derselbe zeigte in der That fast genau dieselben Reactionen, nur die Reaction mit Eisenchlorid + Salzsäure blieb zweifelhaft. Die weitere Verarbeitung des Harns genau nach demselben Verfahren ergab nun aber bald einen sehr wesentlichen Unterschied: Beim Schütteln der ätherischen Lösung mit Natriumcarbonatlösung ging die fragliche Substanz nur spurenweise in die wässerige alkalische Lösung über. Dieselbe zeigte nur ganz schwache Andeutung von Reactionen. Dagegen behielt der Aetherauszug die Eigenschaft, sich mit salpetriger Säure violett zu färben. Ich will hier nicht die Frage discutiren, ob das beschriebene Verhalten des Aetherauszuges von Skatoxylschwefelsäure abhängen kann — nach Analogie mit der Indoxylschwefelsäure wäre ja eine leichte Zersetzlichkeit der freien Säure anzunehmen — oder ob die übrigens schwache Reaction des Aetherauszuges von anderen Umsetzungsprodukten des Skatols abhängt, es genügt mir, dieses verschiedene Verhalten der beiden Harne zu constatiren, als ein Mittel, die Skatolcarbonsäure von den Substanzen zu unterscheiden, welche nach Einverleibung von Skatol im Harn auftreten. Von einer Verwechselung dieser Substanzen mit Skatolcarbonsäure kann demnach nicht die Rede sein.

---

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. IV, S. 414.

Es wurden nunmehr noch einige Versuche angestellt, welche darauf abzielten, folgende Punkte festzustellen:

1. Welche Quantität Skatolcarbonsäure im Harn nach dem Zusatz nachweisbar ist.
2. Wie gross die Menge der in den Magen eingeführten Säure sein müsse, damit sie im Harn nachweisbar sei, und
3. Wieviel ungefähr von den eingeführten kleinen Quantitäten im Harn erscheint.

Versuch IV. Kaninchen von 2400 gr. Kartoffelfütterung. Einspritzung von 40 cbcm. Wasser pro Tag.

Der in 24 Stunden entleerte Harn (Normalharn) wurde auf Skatolcarbonsäure untersucht, dem Harn der nächsten 24 Stunden wurde 0,05 gr. Skatolcarbonsäure zugesetzt (Controllharn), endlich erhält das Kaninchen 0,05 gr. Skatolcarbonsäure in den Magen, der Harn der nächsten 24 Stunden wurde gesammelt und untersucht, Versuchsharn A, ebenso der Harn der zweitnächsten 24 Stunden, Versuchsharn B.

Die Verarbeitung der einzelnen Harne geschah in durchaus gleichmässiger Weise. Der Harn wurde auf dem Wasserbade eingedampft, mit 100 cbcm. absolutem Alkohol gefällt, mit 75 cbcm. nachgewaschen, die alkoholischen Auszüge verdunstet, in Wasser gelöst zu 40 cbcm., mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 5) auf 50 cbcm. gebracht, dann 3 mal mit je 75 cbcm. Aether geschüttelt, die vereinigten Aetherauszüge mit einem Gemisch von 45 cbcm. Wasser und 5 cbcm. Natriumcarbonatlösung anhaltend durchgeschüttelt, die alkalische Lösung, durch Erwärmen auf dem Wasserbade vom gelösten Aether befreit und auf 50 cbcm. ergänzt, diente zur Anstellung der Reactionen. Das Ergebniss war folgendes:

1. Normalharn: mit N_2O_3 und Cl OH keine merkliche Reaction. Die Eisenchloridreaction ergiebt eine unverkennbare Rothfärbung und beim Erkalten Trübung. Beim Durchschütteln der Probe mit Essigäther behält die wässerige Lösung ihre zarte Rosafärbung, die Färbung wird sogar reiner, der Essigäther nimmt eine gelbliche Farbe an.
2. Controllharn: Alle Reactionen fallen sehr intensiv aus, kaum merklich schwächer, als bei einer Lösung von 1 : 1000, welchem Gehalt die alkalische Lösung entsprechen würde unter der Voraussetzung, dass kein Verlust bei der Bearbeitung stattgefunden hätte. Beim Schütteln der Eisenchloridprobe mit Essigäther tritt rother Farbstoff in den Essigäther über, dieses geschah nicht mehr, als die Lösung vor Anstellung der Reaction auf $^1/_{10}$ verdünnt wurde, entsprechend dem Verhalten der Skatolcarbonsäure selbst.

3. Versuchsharn A: Die Lösung giebt starke Reactionen, jedoch unverkennbar schwächer, wie die aus dem Controllharn dargestellte. Die Reactionen wurden etwa gleich, als der Controllharn auf $^1/_2$ bis $^1/_3$ verdünnt wurde.
4. Versuchsharn B: Auch dieser Harn giebt noch starke Reactionen, jedoch schwächer als Versuchsharn A.

Versuch V. Kaninchen von 2700 gr. Körpergewicht, Kartoffelfütterung. Die Versuchsanordnung war eine ähnliche wie im Versuch IV, alle Harne entsprachen jedoch 2tägigen Perioden. Die Quantität der dem Harn von zwei Tagen zugesetzten Skatolcarbonsäure betrug dieses Mal nur 0,01 gr., ebenso erhielt das Thier nur 0,01 gr. in den Magen. Die Harne, die untersucht wurden, waren also:

1. Normalharn von zwei Tagen.
2. Controllharn von zwei Tagen mit 0,01 gr. Skatolcarbonsäure versetzt.
3. Versuchsharn von zwei Tagen nach einmaliger Einführung von 0,01 gr. Skatolcarbonsäure.

Die Verarbeitung der Harne war genau, wie bei dem vorigen Versuche. Die aus den einzelnen Harnen dargestellten Lösungen von je 50 cbcm. zeigten folgende Reactionen:

1. Normalharn: Schwache Andeutung von Eisenchloridreaction, die anderen Reactionen negativ.
2. Controllharn: Starke Reactionen (die Concentration der Lösung entspricht 1:5000; die Concentration im Harn selbst ungefähr 1:20000).
3. Versuchsharn: Alle Reactionen gelingen in durchaus prägnanter Weise, aber andererseits entschieden schwächer, wie bei dem Controllharn.

Aus allen diesen Versuchen folgt also, dass ein gewisser Antheil der in den Körper eingeführten Skatolcarbonsäure wohl verschwindet, dass aber noch sehr kleine Quantitäten Säure sich mit aller Bestimmtheit wiederfinden lassen. Die Leichtigkeit, mit der dieses gelingt, ist in der That höchst bemerkenswerth. Man kann sogar in der Dosis noch weiter heruntergehen, selbst nach Einführung von 2,5 mllgr. in den Magen gab der Harn die angegebenen Reactionen, als die erhaltenen 50 cbcm. der alkalischen Lösung durch Eindampfen auf 15 cbcm. gebracht waren.

Man kann danach erwarten, dass falls sich überhaupt Skatolcarbonsäure im Körper bildet, diese im Harn nachweisbar sein muss[1]).

In der That gelingt es auch leicht, aus menschlichem Harn klare, sauer reagirende Lösungen herzustellen, welche die Reactionen in schönster Weise geben: auch das Verhalten der gebildeten Farbstofflösungen zu Lösungsmitteln ist genau dasselbe. Einige Liter Harn (vom specif. Gew. 1017—1020) wurden eingedampft, mit absolutem Alkohol ausgezogen, der Auszug verdunstet, mit Schwefelsäure stark angesäuert, mit Aether extrahirt. Die Aetherlösung mit Natriumcarbonatlösung geschüttelt, diese Lösung verdunstet, mit absolutem Alkohol ausgezogen, der Auszug verdunstet, und nochmals mit absolutem Alkohol ausgezogen, der filtrirte Auszug (ca. 100 cbcm.) mit dem gleichen Volum Aether versetzt, vom Niederschlag abgegossen und verdunstet. Der Rückstand direkt mit Salzsäure übergossen und der entstandene Brei mit Aether extrahirt. Der Aetherauszug verdunstet, mit heissem Wasser extrahirt, nach dem Abkühlen filtrirt, nochmals verdunstet nnd wieder mit Wasser aufgenommen: die so erhaltene klare Lösung wurde zu den Reactionen benutzt. Das Vorkommen von Skatolcarbonsäure als normaler Harnbestandtheil wird dadurch sehr wahrscheinlich, indessen ist die Beweiskraft der Reactionen offenbar nicht dieselbe, wie für faulende Flüssigkeiten oder nach Einführung der Substanz in den Magen: in diesem Fall bleibt für den bestimmten Nachweis doch die Darstellung der Skatolcarbonsäure in Substanz sehr wünschenswerth. Diesen Nachweis zu erbringen, muss späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Die Aus-

[1]) Ich will nicht versäumen zu erwähnen, dass Baumann bereits eine vielleicht hierher gehörige Angabe gemacht hat. Nach ihm werden die Oxysäuren des Harns von öligen, in Wasser sehr schwer löslichen, stickstoffhaltigen Säuren begleitet, welche bei der Fäulniss mit Cloakenschlamm Skatol liefern — dieses würde freilich mit Skatolcarbonsäure nicht übereinstimmen — und eine dem Indol ähnliche Reaction mit rauchender Salpetersäure zeigen. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XIII, S. 284.

sichten sind nicht eben günstig, wenn man sich erinnert, wie ausserordentlich empfindlich die Reactionen auf Skatolcarbonsäure sind. Ist die fragliche Substanz in der That Skatolcarbonsäure, so lässt sich auch ein vermehrter Gehalt des Harns von der Säure im Falle von Ileus, Peritonitis etc. mit grosser Wahrscheinlichkeit vorhersagen. Auch die Untersuchungen des Darminhaltes, der Fæces, zersetzter pathologischer Flüssigkeiten etc. auf Skatolcarbonsäure muss späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Ueber die Wirkung des Phenylhydrazins auf den Organismus.

Von

Georg Hoppe-Seyler.

(Der Redaktion zugegangen am 16. August 1884.)

Vor Kurzem hat Emil Fischer[1]) Untersuchungen über die Verbindungen, die das Phenylhydrazin mit Aldehyden und Ketonen eingeht, veröffentlicht. Von besonderem Interesse für die Physiologie sind die Verbindungen mit den Kohlehydraten, schwer lösliche, daher leicht zu isolirende Körper. Es lag nun nahe zu untersuchen, wie sich das Phenylhydrazin im thierischen Organismus verhalte, wo ihm ja derartige Substanzen in Menge zu Gebote stehen. Vielleicht war es so möglich, auf die Entstehungsweise vieler Ausscheidungsprodukte, welche jetzt im Vordergrund des Interesses stehen, einiges Licht zu werfen. Wenn in dieser Beziehung bis jetzt die Resultate nicht den gehegten Erwartungen entsprachen, so ergaben sich bei den angestellten Versuchen doch Thatsachen, welche der Veröffentlichung wohl werth sein mögen.

Versuch I. Zunächst gab ich einem mittelgrossen Kaninchen 1 gr. der reinen Substanz mit der Schlundsonde in den Magen. Nach vier Stunden war das Thier todt, ohne charakteristische Alterationen des Allgemeinbefindens gezeigt zu haben. Bei der bald nach dem Tode ausgeführten Section fiel mir sogleich die schwärzlich-braune Färbung der Organe, namentlich der Lungen, auf; die venösen Gefässe waren mit schwarz-braunen Gerinnseln erfüllt, das wenige, noch flüssige Blut, gerann sogleich im Glase zu einer braunen Gallerte. Mit Wasser geschüttelt, zeigte die Lösung die Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins noch, dabei diffuse Verdunkelung von Grün und Blau, aber keinen Absorptionsstreifen im Roth, Methämoglobin war also nicht in nach-

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVII, S. 572 ff.

weisbaren Spuren vorhanden. Die Nieren waren stark geschwollen, der Durchnitt schwarz-braun gefärbt mit radiären, blutigen Streifen. Mikroskopisch waren die Harnkanälchen z. Th. mit Blutkörperchen gefüllt zu sehen. Es zeigte sich also eine Veränderung des Blutes, wie sie ähnlich vom Hydroxylamin[1]) beschrieben ist, und deren Folgen.

Versuch II. Es wurde nun einem Kaninchen 0,5 cbcm. Phenylhydrazin am Morgen unter die Haut gespritzt. Die Substanz wurde nur sehr langsam resorbirt, da sie ja nur schwer in Wasser löslich ist. In der darauffolgenden Nacht starb das Thier, und es zeigten sich bei der Section im Wesentlichen dieselben Verhältnisse, wie in Versuch I.; in der Nähe der Injektionsstelle waren die Hautvenen mit braunen, krümlichen Massen gefüllt, ein Theil der Substanz war noch im Unterhautzellgewebe nachzuweisen.

Da das Phenylhydrazin stark alkalisch reagirt, so war es möglich, dass seine Wirkung auf das Blut wesentlich auf dieser Eigenschaft beruhte. Ich stellte mir daher nach der von E. Fischer[2]) beschriebenen Methode das reine salzsaure Salz dar; dasselbe krystallisirte in glänzenden, weissen Blättchen und war in Wasser sehr leicht mit neutraler Reaction löslich.

Versuch III. Von einer 5procentigen Lösung wurde einem mittelgrossen Kaninchen 1 cbcm. = 0,05 gr. der Substanz unter die Haut gespritzt. Der am nächsten Morgen vorgefundene Harn war trüb, braun gefärbt, alkalisch, zeigte die Oxyhämoglobinstreifen, aber keinen Absorptionsstreifen im Roth. Im Sediment waren rothe Blutkörperchen und einige mit Blut gefüllte Harncylinder zu constatiren. Alkalische Kupfersulfatlösung reducirte der Harn nicht. Auch an den nächsten zwei Tagen enthielt der Harn noch Blut und reducirte ausserdem, nachdem das Eiweiss entfernt war, stark alkalische Kupfersulfatlösung beim Erwärmen. Dabei war ziemlich viel Phenol vorhanden, ohne dass die Menge der Aetherschwefelsäuren eine abnorm grosse gewesen wäre. Eine Drehung der Polarisationsebene war nicht zu constatiren. Dann kehrte der Urin allmählich zur Norm zurück. Eine zweite Injektion von 1 cbcm. der Lösung = 0,05 gr. der Substanz hatte jedoch den Tod des Thieres zur Folge. Die Herzhöhle und die grossen Venen waren wieder mit grossen, schwarz-braunen Gerinnseln erfüllt, obwohl das Thier noch warm war; die Gefässe der Umgebung der zweiten Injectionsstelle waren mit bräunlichen Massen gefüllt, die ältere Injectionsstelle war als brauner Fleck unter der Cutis noch sichtbar. Im Uebrigen waren die Verhältnisse dieselben, wie sie in Versuch I beschrieben sind.

Versuch IV. Einem Kaninchen von annähernd derselben Grösse wurde 1 cbcm. einer 2,5proc. Lösung = 0,025 gr. der Substanz unter

---

1) Vgl. Raimondi und Bertoni: Gazz. chim. ital. 1882, S. 199.

2) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVII, S. 573.

die Haut injicirt. Daraufhin liess sich im Urin keine wesentliche Veränderung nachweisen.

Versuch V. Ich untersuchte nun die Wirkung des salzsauren Phenylhydrazins vom Magen aus. Es wurde einem Kaninchen 0,1 gr. mit der Schlundsonde gegeben, ohne dass in den nächsten Tagen eine nachweisbare Wirkung sich gezeigt hätte. Es wurde ihm 0,2 gr. gegeben. Daraufhin reducirte der Harn am nächsten Tage ziemlich stark alkalische Kupfersulfatlösung, Blut oder Eiweiss traten jedoch nicht darin auf. Als dem Thier aber 0,5 gr. eingeführt wurden, starb es in der folgenden Nacht und bei der Section fanden sich dieselben Veränderungen, wie in den früheren Versuchen; die Magenvenen waren mit bräunlichen Massen gefüllt; der in der Blase vorhandene Urin enthielt Blut, reducirte jedoch nicht stark.

Aus den mitgetheilten Versuchen ging hervor, dass die Wirkung des Phenylhydrazins auf den Organismus im Wesentlichen auf einer Veränderung des Blutfarbstoffes beruht. Es musste daher das Verhalten des Phenylhydrazins, bezw. das seines salzsauren Salzes den Blutfarbstoffen gegenüber untersucht werden.

Mit 1 procentiger Kochsalzlösung gefällte Blutkörperchen wurden in so viel Wasser gelöst, dass die Oxyhämoglobinstreifen gerade bequem zu unterscheiden waren. Wurde eine derartige Lösung mit etwas Phenylhydrazin im Reagirrohr geschüttelt, so zeigte sich schnell eine braune Färbung der Lösung, und die Oxyhämoglobinstreifen verschwanden; das Spectrum enthielt keine scharfen Absorptionsstreifen mehr, sondern nur eine diffuse Verdunkelung von Grün und Blau.

Eine Blutkörperchenlösung von der angegebenen Verdünnung wurde ferner im oben geschlossenen Rohre ohne Luft über Quecksilber aufgestellt und der Fäulniss überlassen, bis die Oxyhämoglobinstreifen vollständig verschwunden waren, nur noch Hämoglobin vorhanden war. Dann wurde etwas Phenylhydrazin mit der Pipette eingelassen. An der Berührungsstelle bildete sich allmählich ein rother Niederschlag, während zugleich die nächsten Theile der Lösung eine purpurrothe Färbung annahmen. Spektroskopisch waren daselbst deutlich die Absorptionsstreifen des Hämochromogens wahrzunehmen. Diese Färbung verlor sich im Verlauf einiger Tage, es trat Entfärbung dieser Theile ein, während weiter

oben im Rohr das Hämoglobin unverändert blieb. Es wurde nun etwas Luft eingeblasen. Bald färbten sich die an den Luftraum grenzenden Theile braun und allmählich verbreitete sich diese Färbung nach unten, ohne dass Methämoglobin in nachweisbarer Menge aufgetreten wäre. Das Spektrum zeigte nur diffuse Verdunkelung von Grün und Blau, Oxyhämoglobin bildete sich nirgends.

Auch eine neutral reagirende Lösung des salzsauern Phenylhydrazins, mit Blutkörperchenlösung geschüttelt, ergab die beschriebene Braunfärbung der Lösung. Bei Anwendung einer so concentrirten Blutlösung, dass beim Durchsehen mit dem Spektroskop nur gerade das Roth noch gesehen werden konnte, zeigte sich, als sie mit etwas wässeriger Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin versetzt wurde, schwach, aber deutlich der Methämoglobinstreifen im Roth, der beim Umschütteln jedoch alsbald verschwand. Die braun gewordene Lösung wurde mit schwefelsäurehaltigem Alkohol versetzt und erwärmt, dann filtrirt. Das Filtrat zeigte nicht die Absorptionsstreifen des Hämatins. Es mussten also noch unbekannte Körper, Zersetzungsprodukte des Oxyhämoglobins auftreten.

Eine verdünnte Blutkörperchenlösung wurde, im oben geschlossenen Rohr über Quecksilber aufgestellt, faulen gelassen, bis nur noch Hämoglobin darin zu constatiren war. Dann wurde etwas vorher ausgekochte Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin eingelassen. Es zeigte sich keine Veränderung des Hämoglobins in den nächsten Tagen; sowie jedoch Luft eingeblasen wurde, trat Bräunung ein, welche von dem Luftraume sich allmählich nach unten verbreitete und nur allgemeine Verdunkelung von Grün und Blau im spektroskopischen Bilde erzeugte.

Eine Lösung von Blutkörperchen, welche nur Oxyhämoglobin enthielt, wurde auch über Quecksilber abgeschlossen aufgestellt und etwas Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin unten eingelassen. Bald war unten die Blutlösung gebräunt und zeigte die diffuse Verdunkelung von Grün und Blau, darüber kam eine Schicht, die nur Hämo-

globin enthielt, und zu oberst waren die Oxyhämoglobinstreifen noch erhalten. Die Bildung des Hämoglobins ist wohl so zu erklären, dass zur Erzeugung des braunen Farbstoffs mehr Sauerstoff nöthig ist, als das Oxyhämoglobin enthält, so dass derselbe nach weiterem Oxyhämoglobin entzogen werden muss, worauf sich aus diesem Hämoglobin entwickelt. Denn Zwischenprodukt kann das Hämoglobin nach dem vorausgehenden Versuche nicht sein, da ohne Sauerstoff aus ihm der braune Farbstoff von dem salzsauren Phenylhydrazin nicht gebildet werden kann.

Um das braune Zersetzungsprodukt des Oxyhämoglobins näher zu untersuchen, wurden frischgesenkte Blutkörperchen in möglichst wenig Wasser gelöst und mit einer Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin so lange in einer Schale unter häufigem Umrühren versetzt, bis im Reagirrohr bei entsprechender Verdünnung keine Oxyhämoglobinstreifen mehr wahrzunehmen waren. Dabei zeigte sich, dass, nachdem das Oxyhämoglobin verschwunden war, die Masse, die allmählich breiartig wurde und sauer reagirte, sich in Wasser nicht mehr vollständig löste und beim Umschütteln mit Wasser einen schwachen Absorptionsstreifen im Grüngelb wahrnehmen liess. Dagegen löste sich die Masse, mit dem zehnfachen Volumen Alkohol versetzt, darin vollständig. Diese Lösung hatte roth-braune Farbe und zeigte einen scharfen, dunkeln Absorptionsstreifen hinter D und zwar etwas hinter der Stelle des näher an D liegenden Oxyhämoglobinstreifens, ausserdem war Grün und Blau diffus verdunkelt. Aetherzusatz bewirkte keine Fällung des Farbstoffs, ebensowenig Ammoniak, Schwefelsäure, neutrales und basisches Bleiacetat. Dagegen gab Quecksilberchlorid eine Trübung, wohl eine Verbindung mit überschüssigem, salzsauren Phenylhydrazin.

Die alkoholische Lösung des Farbstoffs auf dem Wasserbade verdunstet, hinterlässt einen dunkel-grünen Körper. Derselbe ist in angesäuertem Alkohol ziemlich leicht, in angesäuertem Wasser schwerer, sonst nicht löslich. Spektroskopisch ist nur allgemeine Verdunkelung von Grün und Blau zu sehen, der Absorptionsstreif hinter D ist verschwunden.

Versetzt man den möglichst durch Waschen mit Wasser von überschüssigem, salzsauren Phenylhydrazin befreiten grünen Farbstoff mit etwas concentrirter Salpetersäure, so entsteht eine rothe Lösung, welche aber keine charakteristischen spektroskopischen Eigenschaften besitzt. Eine ähnliche Farbe gibt auch das salzsaure Phenylhydrazin mit concentrirter Salpetersäure; da jedoch der grüne Farbstoff mit Wasser öfters gewaschen war, konnte die Rothfärbung von überschüssigem salzsauren Phenylhydrazin nicht wohl herrühren. Der roth-braune Farbstoff geht in alkoholischer Lösung beim Stehen an der Luft sowohl, wie über Quecksilber abgeschlossen, in einigen Stunden in den grünen Farbstoff über, es ist daher schwer mit ihm zu operiren.

Aus den mitgetheilten Versuchen geht also hervor, dass sowohl das reine Phenylhyrazin, als seine salzsaure Verbindung Thiere in ziemlich geringer Dosis tödtet unter den Erscheinungen einer weitgehenden Blutzersetzung mit consecutiver Hämaturie. Das Gift wirkt stärker unter die Haut injicirt, als vom Magen aus. Es genügen 0,05 gr. salzsaures Phenylhydrazin unter die Haut injicirt, 0,5 gr. vom Magen aus, um ein mittelgrosses Kaninchen zu tödten.

Die Wirkung auf das Blut tritt nur bei Anwesenheit von Sauerstoff in demselben auf und besteht in der Bildung eines charakteristischen, bisher nicht bekannten Farbstoffs mit scharfem Absorptionsstreifen, der jedoch sehr leicht in eine andere, nicht durch scharfe Absorption des Spektrums gekennzeichnete Substanz übergeht. Das reine Phenylhydrazin wirkt vermöge seiner alkalischen Eigenschaft anders, als das neutrale salzsaure Salz, indem es aus Hämoglobin bei Ausschluss von Sauerstoff Hämochromogen bildet.

Weitere Versuche werden wohl noch mehr Licht auf diese Verhältnisse werfen; besonders möchte ich noch die Wirkung von Verbindungen des Phenylhydrazins mit Aldehyden etc. untersuchen. Doch schienen mir die bis jetzt erzielten Resulte wichtig genug, um sie jetzt schon zu veröffentlichen.

Neues Verfahren zur Ausmittelung des Strychnins, sowie einiger anderer Alkaloide in Vergiftungsfällen.

Von

Dr. Th. Chandelon.

(Der Redaktion zugegangen am 1. August 1884.)

Wenn es sich in einer gerichtlich-chemischen Untersuchung darum handelt, die Gegenwart von Strychnin nachzuweisen, so bedient man sich gewöhnlich des Verfahrens, welches Stas für die Ausmittelung der Alcaloide angegeben hat.

Ohne dass Dragendorff die Genauigkeit dieser Methode bestreiten will, bemerkt er, dass der nothwendige Gebrauch von viel Aether bei dieser Methode doch sehr unangenehm sei. In seinem Buche: Die gerichtlich-chemische Ermittelung von Giften (2. Aufl. 1876) sagt er Seite 157: «Für die Anwendung dieser Methode ist es beachtenswerth, dass Strychnin, namentlich wenn es aus der amorphen in krystallinische Modifikation übergegangen ist, nicht sehr löslich in Aether ist und dass man desshalb grössere Mengen Aether anwenden muss, wenn man sicher sein will, alles Strychnin zu gewinnen». Desshalb räth dieser Chemiker, anstatt des Aethers Benzin zu nehmen. Aus demselben Grunde ziehen andere Autoren entweder Amylalkohol oder Chloroform vor. Das letztere von diesen Lösungsmitteln löst Strychnin am besten. Beim Schütteln von alkalischen wässerigen Lösungen organischer Substanzen mit Chloroform erhält man aber unglücklicherweise sehr häufig ausserordentlich zähe emulsionsartige Massen, welche sich auch durch Hinzufügen von Alkohol nicht immer in zwei scharf abgegrenzte Schichten trennen lassen. Wer sich öfter mit toxi-

kologischen Arbeiten beschäftigt hat, kennt dieses unangenehme Ereigniss, das so gut wie sicher eintritt, wenn die Lösung zu alkalisch ist, sei es durch einen Ueberschuss von Kali oder von Natron oder besonders von Ammoniak.

Um diese Schwierigkeit der Trennung zu überwinden, ziehe ich es vor, nicht die alkalische Lösung sogleich mit dem Chloroform zu behandeln, sondern diese durch Abdampfen einzuengen, und dann mit gutem Gyps zu vermengen in dem Verhältniss, dass sie nach einiger Zeit fest wird. Nach dem Pulverisiren lässt sich diese Masse dann sehr leicht durch Chloroform ausziehen. So erhält man eine vollständig wasserfreie Lösung von Strychnin in Chloroform, aus der man durch Zusatz einer ätherischen Oxalsäurelösung das Alkaloid als krystallinisches Oxalat vollständig ausfällen kann.

Diese Betrachtungen führten mich zu einem Verfahren, mit welchem es mir gelungen ist, aus Organen von Thieren, die mit kleinen Gaben vergiftet waren, das Strychnin darzustellen. Im Folgenden gebe ich eine ausführliche Beschreibung der Methode, welcher ich einige Untersuchungen anfügen werde, die ich unternommen habe, theils um mich über die mehr oder weniger grosse Genauigkeit des Verfahrens zu unterrichten, theils um zu erforschen, ob es sich auch auf die Ermittelung anderer Alkaloide ausdehnen lasse.

Die Eingeweide werden fein zerkackt und mit einem gleichen Gewicht gut entwässerten Gypses[1]) vermengt. Diese Mischung verreibt man in einem Mörser bis man eine gleichmässige Masse erhält, die nach 4—5 Stunden so fest ist, dass sie in kleine Stücke getheilt werden kann. Diese werden dann in flachen Schalen entweder auf dem Wasserbade oder in einem Trockenschrank bei 70° etwa getrocknet. Wenn die Stücke vollständig trocken sind, werden sie pulverisirt, das Pulver wird mit 90% Alkohol, dem etwas Weinsäure zugesetzt war, ausgekocht. Auf 100 gr. frisch gewogener organischer Substanz gebe ich 1 gr. krystallisirte Weinsäure.

---

[1]) Ich bediene mich des käuflichen Kalksulfats, das ich zur Entwässerung so lange in einem Strom trockener Luft bei 130° halte, bis eine Probe mit Wasser sogleich fest wird.

Wenn man so eine Stunde lang in einer grossen Kochflasche am Rückflusskühler ausgekocht hat, filtrirt man und wäscht mit neuem heissen Alkohol den Filterrückstand aus. Das gesammte Filtrat unterwirft man der Destillation, nachdem man sich aber vorher überzeugt hat, dass die Reaction der Flüssigkeit deutlich sauer ist, wenn letzteres nicht der Fall ist, muss man von Neuem Weinsäure hinzusetzen. Sobald die Hauptmenge des Alkohols abdestillirt ist, hört man mit der Destillation auf und verjagt den Rest bis zur Trockenheit auf dem Wasserbade. Der Rückstand wird mit wenig siedendem Wasser aufgenommen, zur Ausscheidung des Fettes wird erkalten gelassen, hierauf wird filtrirt. Das Filtrat wird bis zu einem Volumen von 20—25 cbcm. eingeengt, dann mit Natronlauge bis zur deutlich alkalischen Reaction versetzt und nun sogleich in ein grosses Uhrglas gebracht, wo man es mit Gyps mischt. Wenn die Masse fest geworden ist, wird sie pulverisirt, das Pulver im Schwefelsäureexsiccator getrocknet und schliesslich in einem Soxlet'schen Extractionsapparat (grosse Form) mit Chloroform ausgezogen.

Das Chloroform wird auf ein kleines Volumen — etwa 10-15 cbcm.— gebracht und, wenn nöthig, filtrirt. Der Chloroformauszug wird jetzt mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Lösung von Oxalsäure in Aether versetzt. Bald sieht man nun schöne, zu Büscheln vereinigte Nadeln von oxalsaurem Strychnin sich ablagern. Die Gesammtmenge des Alcaloids wird so niedergeschlagen. Das Oxalat wird auf einem Filter gesammelt, mit einer Mischung aus gleichen Theilen Aether und Chloroform gewaschen, getrocknet und endlich in so wenig als möglich Wasser gelöst. Auf Zusatz von Ammoniak zu dieser Lösung schlägt sich das Strychnin nach und nach in Nadeln nieder.

Mit dieser Methode habe ich Strychnin wiedergewinnen können:

1. Aus einem, durch eine subcutane Injektion von 1 ctgr. schwefelsauren Strychnins vergifteten Frosche;

2. Aus der Leber eines Kaninchens, das durch 4 ctgr. des Sulfats subcutan getödtet worden war;
3. Aus dem Magen einer Katze, gestorben nach Aufnahme eines Fleischklosses, 3 ctgr. Strychnin enthaltend.

Man kann folgendermassen die durch dieses Verfahren gegebenen Vortheile zusammenfassen:

1. Man erhält sogleich eine alkoholische Lösung, die nur wenig Wasser enthält und desshalb viel weniger fremde organische Substanz enthält, als wenn sie direkt aus frischen Organen gewonnen wäre. Durch die Destillation gewinnt man den grössten Theil des gebrauchten Alkohols wieder und in einer Concentration, dass die Rectification sehr leicht ist.
2. Dies Verfahren nutzt die energische Extractionskraft des Chloroforms vollständig aus; es vermeidet die unangenehmen Zufälle der Ausschüttelmethode und liefert eine Chloroformlösung, worin man das Alkaloid in Form eines Salzes von grosser Reinheit niederschlägt.

Man könnte jedoch diesem Verfahren den Vorwurf machen, zu lang zu sein; aber gerade die Verrichtungen, welche mehr Zeit erfordern, verlangen keine sorgfältige Ueberwachung mehr, sobald sie einmal in Betrieb gesetzt sind; und der Chemiker hat während dieser Zeit Musse, sich mit anderen Arbeiten zu beschäftigen.

Untersuchungen über den Grad der Genauigkeit des Verfahrens.

Für die Lösung dieser Frage genügt es, eine gegebene Menge Strychnin mit thierischer Substanz zu vermengen und das wiedergewonnene Alkaloid quantitativ auf ein gewogenes Filter zu bestimmen. Um jeden Verlust zu vermeiden, muss man natürlich die grösste Sorgfalt auf das Auswaschen des unlöslichen Rückstandes verwenden; die Mörser mit neuem Gyps nachspülen u. s. w.

Da jedoch Strychnin nicht vollständig unlöslich in Wasser ist, muss man zur Gewichtsbestimmung die Alkaloidmenge hinzuzählen, welche im Waschwasser gelöst sein muss[1]).

Im Folgenden gebe ich die Resultate der Untersuchungen:

I.

Gehacktes Pferdefleisch	300 gr.
Krystallsaures schwefelsaures Strychnin . . . (0,0387 gr. reines Strychnin enthaltend)	0,0451 «
Gewicht der wiedererhaltenen Strychins . . .	0,0226 «
Auf 100 cbcm. Waschwasser berechnet . . .	0,015 «
Summe . . .	0,0376 gr.

0,0387 gr. angewandt
0,0367 « wiedererhalten

0.0011 gr. Verlust.

II.

Pferdeleber	203 gr.
Reines Strychnin	0,0448 «
Gewicht des wiedererhaltenen Strychnins . . .	0,027 «
In Lösung (100 cbcm. Waschwasser)	0,0149 «
Summe . . .	0,0419 gr.

0,0448 gr. angewandt
0,0419 « wiedererhalten

0,0029 gr. Verlust.

III.

Pferdeleber	357 gr.
Reines Strychnin.	0,0178 «
Gewicht des wiedererhaltenen Strychnins . . .	0,0058 «
In Lösung (70 cbcm. Waschwasser)	0,01043 «
Summe . . .	0,01623 gr.

0,0178 gr. angewandt
0,01623 « wiedererhalten

0.00157 gr. Verlust.

1) Nach Angaben der Autoren löst sich 1 Theil Strychnin in 6667 Theilen kaltes Wasser, und Ammoniak steigert die Löslichkeit nicht.

Kann dies Verfahren auch für die Ermittelung anderer Alcaloide Anwendung finden?

Da Chloroform fast alle vegetabilischen Alkaloide mit Leichtigkeit löst, so kann schon a priori angenommen werden, dass diese Methode sich in gleicher Weise auf diejenigen, deren Lösung in Chloroform vollständig durch eine ätherische Oxalsäurelösung gefällt wird, anwenden lässt. Es ist nöthig, dieses desshalb gleich anfangs festzustellen. Für diesen Zweck löst man das betreffende Alkaloid in wenig Chloroform und mischt dieses mit der gleichen Menge einer concentrirten Lösung von Oxalsäure in Aether. Man bestimmt die Natur des Niederschlages und überzeugt sich, ob die filtrirte Flüssigkeit nicht noch eine bestimmbare Menge Alkaloid in Lösung hält.

Obgleich diese Untersuchungen äusserst einfach sind, halte ich mich doch für verpflichtet, die Operationsweise zu schildern.

Untersuchung des Niederschlages: Der Niederschlag wird erst mit einer Mischung aus gleichen Theilen Chloroform und Aether gewaschen, getrocknet und dann in Wasser gelöst; man stumpft durch ein wenig Soda die saure Reaction etwas ab und fällt die Oxalsäure mit Chlorcalcium aus, darauf filtrirt man und untersucht die Lösung durch die allgemeine Alkaloidreagentien, besonders: Jodjodkalium, Jodquecksilberjodkalium, Gerbsäure, Pikrinsäure, Phosphormolybdänsäure.

Untersuchung der Flüssigkeit: Die Lösung wird abgedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, und diese Lösung unterwirft man der oben geschilderten Behandlung.

Ehe ich die Resultate dieser Untersuchungen mittheile, muss ich darauf aufmerksam machen, dass eine einfache Mischung von reinem Chloroform mit ätherischer Oxalsäurelösung sofort beim Zusammengiessen sich trübt und dass diese Trübung von einer durch die Hand bemerkbare Temperaturerhöhung begleitet ist; dann klärt sich allmählich die Flüssigkeit auf und Oxalsäurekrystalle lagern sich nach und nach ab: sie sind prismatisch oder cubisch und transparent,

unterscheiden sich aber bemerkbar von den Krystallen der verschiedenen Alkaloidoxalate:

	Untersuchung des Niederschlages.	der Flüssigkeit.	Bemerkungen.
Brucin. 1 ctgr. in 100 cc. Chloroform gelöst.	Nach ungefähr 1/4 St. Ablagerung v. schönen Nadeln in Büscheln, denen des Strychninoxalates vollständig gleichend.	Sie enthält nicht eimal Spuren des Alkaloids,	—
Narcein. 1 ctgr. in 10 cc. Chloroform.	Es bilden sich kleine, weisse, verfilzte Nadeln, welche sich schnell ablagern.	Wie oben.	—
Papaverin. 1 ctgr. gelöst in 15 cc.	Anfangs bemerkt man nichts; nach 24 Stunden findet man prächtige und voluminöse Nadeln in Büscheln.	Spuren des Alkaloids sind in der Lösung.	—
Thebain. 1 ctgr. gelöst in 20 cc.	Anfangs nichts; nach 24 Stunden schöne Krystalle, die durchsichtig und zu halbkugeligen Massen radiär gestellt sind.	Spuren des Alkaloids hält die Lösung zurück.	—
Morphin.	—	—	Löst sich nicht in Chloroform.
Aconitin. 1 ctgr. gelöst in 10 cc.	Nach 24 St. bemerkt man einen amorphen schmierigen Niederschlag v. gelber Farbe.	Keine Spuren des Alkaloids in der Flüssigkeit.	—
Atropin. 1 ctgr. gelöst in 10 cc.	Nach 24 St. zeigt sich ein Niederschlag kleiner Krystallnadeln.	Ebenso.	—

	Untersuchung		Bemerkungen.
	des Niederschlages.	der Flüssigkeit.	
Hyoscyamin. 1 ctgr. gelöst in 10 cc.	Nach 24 St. hat sich die Flüssigkeit noch nicht aufgeklärt und filtrirt trübe; nach 2 × 24 Stunden steht eine klare Flüssigkeit über eine Ablagerung kleiner Nadeln.	Keine Spuren des Alkaloids in der Flüssigkeit.	—
Veratrin. 1 ctgr. gelöst in 10 cc.	Nach 24 St. bilden sich dicke und kurze Nadeln in Büscheln.	Die Lösung enthält keine Spuren des Alkaloids.	—
Nicotin. 2 Tropfen in 10 cc.	Kleine baumförmig verzweigte Krystalle, welche sich nach einigen Stunden bilden.	Ebenso.	—
Coniin. 2 Tropfen in 10 cc.	Kleine Nadeln, die sich nach einigen Stunden ablagern.	Ebenso.	—
Colchicin.	—	—	Löst sich nicht in Chloroform.

Aus obiger Tabelle geht hervor, dass von allen angewandten Alkaloiden, und das waren alle, welche ich besitze, drei nicht nach diesem Verfahren aufgesucht werden können; diese sind: Morphin, Narcotin und Colchicin. Die anderen werden vollständig als Oxalate ausgefällt (von Papaverin und Thebain bleiben jedoch Spuren im Chloroform). Die Niederschläge bilden sich mehr oder weniger schnell (von einigen Minuten bis zu einigen Stunden): beim Strychnin, Brucin, Narcein, Codein, Nicotin und Coniin; in 24 Stunden für die übrigen. Die Ablagerungen sind immer krystallinisch, mit Ausnahme des Aconitinniederschlages, der amorph ist.

Die Gegenwart der zuletzt aufgeführten Alkaloide kann demnach in thierischen Substanzen nach meinem Verfahren dargethan werden; ich habe übrigens einige von ihnen in Untersuchung gezogen und habe sie nachgewiesen:

1. Brucin bei einem damit vergifteten Frosche,
2. Nicotin in der Leber eines durch zehn Tropfen subcutan vergifteten Kaninchens,
3. Veratrin im Magen und im Erbrochenen einer Katze, die 4 ctgr. dieses Giftes genommen hatte.
4. Atropin bei einem durch eine Injektion von 2 ctgr. vergifteten Frosche.

In den obigen Untersuchungen ist das Verfahren jedoch leicht modificirt worden. Diese Alkaloide wurden nämlich aus ihrer Lösung als Salz nicht vollständig durch Ammoniak ausgefällt. Anstatt desshalb das Oxalat in Wasser zu lösen und das Alkaloid durch Ammoniak zu fällen, habe ich es in Alkohol gelöst und dieser Lösung bis zur vollständigen Ausfällung der Oxalsäure ein wenig alkoholische Kalilauge hinzugefügt; dann filtrirte ich und entfernte den Ueberschuss von Kali durch einen Kohlensäurestrom. Nach wiederholter Filtration überliess ich den Alkohol der freiwilligen Verdunstung und erhielt so einen Rückstand von reinem Alkaloid.

Toxikologisch-chemisches Laboratorium der Universität Lüttich. — Juli 1884.

Ueber die Assimilation des Eisens.

Von

G. Bunge.

(Der Redaktion zugegangen am 5. September 1884).

Die Erfolge, welche bei der Behandlung der Chlorose mit Eisenpräparaten erzielt worden sind, haben viele Aerzte und Physiologen zu der Annahme verleitet, unser Organismus besitze die Fähigkeit, durch Synthese aus anorganischen Eisenverbindungen und Eiweiss Hämoglobin zu bilden. Neuere Forschungen aber haben bekanntlich gezeigt, dass das Eisen, welches die Aerzte den Chlorotischen eingaben, damit sie daraus Hämoglobin bilden, zum Glück für die Patientinnen gar nicht resorbirt wird. Gelangen Eisensalze in's Blut, so treten, wie Thierversuche gezeigt haben, Vergiftungserscheinungen ein, ähnlich denen der Arsenwirkung.

Wir müssen uns daher vor Allem die Frage vorlegen: In welcher Form wird unter normalen Verhältnissen das Eisen resorbirt und assimilirt? Woraus bildet sich das Hämoglobin?

Zur Entscheidung dieser Frage habe ich die Eisenverbindungen der Milch und des Eidotters untersucht. Die Milch, als die ausschliessliche Nahrung des Säuglings, muss das Material zur Hämoglobinbildung enthalten, ebenso der Eidotter, aus dessen Bestandtheilen während der Bebrütung Hämoglobin sich bildet, ohne dass von aussen etwas hinzukommt.

Bei der Untersuchung der Milch stösst man auf grosse Schwierigkeiten, weil der Eisengehalt der Milch sehr gering ist. Weit leichter gelingt es, aus den eisenreichen Dottern der Hühnereier eine zur weiteren Prüfung und Analyse genügende Menge der fraglichen Eisenverbindung zu isoliren.

Extrahirt man den Eidotter mit Alkohol, so geht in das erste Alkoholextrakt eine Spur Eisen über, weil das Extrakt noch wasserhaltig ist. Die weiteren Alkoholextrakte und die Aetherextrakte enthalten keine Spur Eisen. Alles Eisen befindet sich also in dem in Alkohol und Aether unlöslichen Theile des Dotters, welcher ungefähr 1/8 von dem Gewichte des trockenen Dotters ausmacht.

In diesem Rückstande ist das Eisen nicht als anorganisches Salz oder als salzartige Verbindung des Eisenoxyds oder Oxyduls mit organischen Säuren enthalten, sondern als organische Verbindung. Dieses folgt schon aus der einfachen Thatsache, dass aus diesem Rückstande mit salzsäurehaltigem Alkohol kein Eisen sich extrahiren lässt. Stellt man Eiweissniederschläge dar, welche bei ihrer Bildung etwas künstliches Eisenalbuminat oder phosphorsaures Eisenoxyd eingeschlossen haben, so lässt sich darin die kleinste Spur Eisen durch Extraktion mit salzsäurehaltigem Alkohol in der Kälte und Zusatz von Schwefelammonium zum Extrakte sofort nachweisen. Davon habe ich mich durch sehr zahlreiche, vielfach modifizirte Versuche überzeugt. Aus dem in Alkohol und Aether unlöslichen Theil des Eidotters dagegen konnte ich selbst bei mehrtägigem Digeriren mit salzsäurehaltigem Alkohol bei einer dem Siedepunkte des Alkohols nahe kommenden Temperatur niemals auch nur eine Spur Eisen extrahiren.

Auf folgendem Wege gelingt es, die organische Eisenverbindung zu isoliren. Man befreit die Dotter von dem anhaftenden Eiweiss dadurch, dass man sie über Fliesspapier rollen lässt. Darauf werden sie mit Aether extrahirt. Der in Aether ungelöste Rückstand löst sich vollständig in sehr verdünnter Salzsäure (1‰) zu einer opalisirenden Flüssigkeit. Bei genügender Verdünnung mit 1‰ Salzsäure lässt sich diese Flüssigkeit leicht filtriren. Das Filtrat ist jedoch niemals klar, sondern stets opalisirend. Auf dem Filter bleibt nichts anderes zurück, als die Fetzen der Dottermembranen. Das Filtrat wird mit künstlichem Magensafte (Schleimhaut vom Schweinemagen mit 2,5‰ Salzsäure extrahirt) versetzt. Hierdurch tritt bei gewöhnlicher Temperatur, auch nach

längerem Stehen keine sichtbare Veränderung in der Flüssigkeit ein. Sobald man jedoch die Flüssigkeit auf Körpertemperatur erwärmt, trübt sie sich und allmälig senkt sich ein nahezu farbloser (schwach gelblich gefärbter) Niederschlag zu Boden. Dieser Niederschlag enthält fast sämmtliches Eisen. Die darüberstehende klare Flüssigkeit enthält nur sehr geringe Eisenmengen.

Zur Controle wurde die opalisirende salzsaure Lösung, statt mit Magensaft mit dem gleichen Volumen 2,5 ‰ Salzsäure versetzt, der Körpertemperatur ausgesetzt. Hierbei trat auch nach tagelangem Stehen keine Zunahme der Trübung ein. Es scheint also, dass der eisenhaltige Niederschlag durch eine Fermentwirkung aus einer complicirteren Verbindung sich abspaltet.

Der Niederschlag wird zunächst mit 1 ‰ Salzsäure, dann mit reinem Wasser ausgewaschen, darauf wiederholt mit Alkohol ausgekocht und schliesslich mit Aether extrahirt. Darauf wird er in wässerigem Ammoniak gelöst, filtrirt und das klare Filtrat mit Alkohol gefällt. Der entstehende Niederschlag enthält sämmtliches Eisen, die Lösung eine bedeutende Menge eiweiss- und peptonartiger Substanzen ohne eine Spur von Eisen. Der Niederschlag wird mit Alkohol ausgewaschen, darauf in Alkohol suspendirt und der Alkohol mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaktion versetzt. Darauf wird der Niederschlag nochmals mit Alkohol ausgewaschen und ausgekocht bis im Filtrate kein Chlor mehr nachweisbar ist. Schliesslich wird der Niederschlag nochmals mit Aether digerirt und auf dem Filter ausgewaschen. Der Niederschlag backt dabei zu einer homogenen Masse zusammen, welche beim Verdunsten des Aethers vollkommen durchsichtig wird, eine gelbbraune Farbe annimmt, von Rissen durchsetzt wird und in scharfkantige Bruchstücke zerfällt.

Diese Bruchstücke lassen sich leicht zu einem feinen Pulver zerreiben, welches schwach gelblich gefärbt ist. Dasselbe wird zuerst im Vacuum über Schwefelsäure, darauf im Luftbade bei 110° getrocknet. Höher darf die Temperatur nicht gesteigert werden, weil dann Bräunung eintritt. Auf

diese Weise wurden aus 200 Eidottern, welche zusammen ein Gewicht von 2258 gr. hatten, 34 gr. der Eisenverbindung dargestellt. Dabei waren des Zeitgewinnes wegen bedeutende Verluste nicht vermieden worden.

Dass das Eisen in diesem Präparat nicht als Eisensalz oder als Eisenalbuminat, sondern als organische Verbindung enthalten ist, schliesse ich aus folgenden Gründen:

1. Der eisenhaltige Niederschlag hatte sich aus salzsaurer Lösung abgeschieden. Mit salzsäurehaltigem Alkohol (90 Volumtheile 96-grädigen Alkohols mit 10 Volum 25 % Salzsäure gemischt) liess sich aus dem Präparate auch bei mehrtägigem Digeriren keine Spur Eisen extrahiren. Auch bei 2-tägigem Digeriren mit 1 % wässeriger Salzsäure in der Kälte ging kein Eisen in Lösung. Liess man concentrirtere Salzsäure einwirken, so wurde allmälig ein kleiner Theil des Eisens extrahirt, um so mehr, je concentrirter die Säure; es wurde also das Eisen durch eine Massenwirkung aus der organischen Verbindung abgespalten.
2. Setzt man zur wässerigen ammoniakalischen Lösung des Präparates, welche nahezu farblos ist, einen Tropfen Schwefelammonium, so tritt zunächst nicht die geringste Farbenveränderung ein. Erst nach Verlauf einer halben Stunde und länger zeigt sich eine ganz schwache Grünfärbung, welche sehr allmälig, im Laufe mehrerer Stunden in ein intensives Dunkelgrün übergeht, bis schliesslich am folgenden Tage die Flüssigkeit vollkommen schwarz und undurchsichtig ist. Diese Farbenveränderung vollzieht sich um so schneller, je grösser die Menge des zugesetzten Schwefelammonium. Es handelt sich also auch hier um eine Massenwirkung, durch welche der Schwefel das Eisen aus der organischen Verbindung abspaltet. Setzt man zu einer ammoniakalischen Eiweisslösung, welche nur eine ganz geringe Menge eines künstlichen Eisenalbuminats neben viel Eiweiss enthält, einen Tropfen Schwefelammonium, so tritt die Grünfärbung fast augenblicklich ein.

In Kalilauge löst sich das Präparat vollkommen klar mit gelblicher Farbe auf. Allmälig aber, nach einigen Tagen scheidet sich aus dieser Lösung ein Theil des Eisens als rothbrauner Eisenoxydniederschlag ab. Erhöhte Temperatur beschleunigt diese Abscheidung. Aus der ammoniakalischen Lösung dagegen scheidet sich auch nach wochenlangem Stehen kein Eisenoxyd ab, ebensowenig beim Kochen. Setzt man zur ammoniakalischen Lösung etwas Ferrocyankalium und übersättigt darauf mit Salzsäure, so fällt zunächst ein weisser Niederschlag heraus, welcher sich allmälig blau färbt, um so rascher, je grösser der Salzsäureüberschuss und je concentrirter die Salzsäure war. Setzt man zur ammoniakalischen Lösung statt des Ferrocyankaliums Ferridcyankalium und darauf Salzsäure, so bleibt der herausfallende Niederschlag weiss. Das Eisen spaltet sich also als Oxyd aus der Verbindung ab.

Ausser dem Eisen enthielt das Präparat von anorganischen Elementen Spuren von Ca, Mg und Cl. Alkalien waren nicht darin enthalten. Sehr reich ist dagegen das Präparat an Phosphor. Dieses musste erwartet werden, denn nach dem Löslichkeitsverhalten, welches aus der Darstellungsweise ersichtlich ist, gehört die Verbindung in die Gruppe der Nucleïne. Wenn bisher die Nucleïne eisenfrei gefunden wurden, so ist dieses vielleicht dem Umstande zuzuschreiben, dass dieselben zum Zwecke ihrer Reindarstellung wiederholt in Alkalien gelöst und mit Säuren gefällt wurden. Hierbei, insbesondere wenn die Lösung in Alkalien bei erhöhter Temperatur vorgenommen wird, spaltet sich das Eisen als Eisenoxyd ab. Die organische Eisenverbindung verträgt nur die Auflösung in Ammoniak, nicht in Kali oder Natronlauge und darf mit Säuren nur bei Gegenwart von Alkohol behandelt werden. Der Alkohol, als wasserbindendes Mittel, verhindert offenbar die hydrolytische Abspaltung des Eisenoxyds. Von den Autoren, welche sich bisher mit der Untersuchung der Nucleïne beschäftigt haben, ist nur Lubavin[1]), welcher das Nucleïn der Milch untersuchte, auf den Eisengehalt desselben aufmerksam geworden.

[1]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. X, S. 2238. 1877.

Bei der quantitativen Elementar-Analyse meines Präparates verfuhr ich folgendermassen:

Alle Bestimmungen wurden an demselben anbei 110° C. getrockneten Präparaten ausgeführt.

Zur Bestimmung des Kohlen- und Wasserstoffs wurde die Verbrennung im Gasofen im Luft- und Sauerstoffstrome ausgeführt. Die Länge des Verbrennungsrohres betrug 88 cm. Die sehr fein gepulverte Substanz befand sich mit 4 gr. feingepulverten chromsauren Bleies innig gemischt in einem Porzellanschiffchen, hinter dem Schiffchen eine Kupferspirale, vor dem Schiffchen zunächst eine 20 cm. lange Schicht chromsauren Bleies, darauf eine 25 cm. lange Schicht gekörnten Kupferoxyds, schliesslich eine 15 cm. lange Schicht feiner Silberspäne (Tressensilber). Auf diese Weise gaben:

1. 0,4125 gr. des Präparates 0,2234 H_2O = 6,02% H und 0,6383 CO_2 = 42,20% C.
2. 0,4566 gr. in derselben Weise gaben 0,2520 H_2O = 6,13% H und 0,7033 CO_2 = 42,01% C.
3. 0,5568 gr. gaben bei der Verbrennung mit Natronkalk nach Varrentrapp und Will 1,2993 Platinsalmiak = 14,69% N. Aus dem Platinsalmiak wurden erhalten 0,5719 Pt = 14,63% N, im Mittel aus beiden Bestimmungen 14,66% N.
4. 0,5231 gr. gaben bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung nach Dumas 68,1 cbcm. N über Wasser abgesperrt bei 763,2 mm. Barometerdruck und 21,6° C. = 61,72 cbcm. N bei 0° C. und 760 mm. Quecksilberdruck = 0,07754 N = 14,82% N.
5. 4,7411 gr. werden mit 5 gr. Na_2CO_3 und Wasser in der Platinschale digerirt, eingedampft und eingeäschert. Die noch kohlehaltige Asche wird mit heissem Wasser extrahirt, der ungelöste Rückstand auf einem aschefreien Filter gesammelt, mit heissem Wasser ausgewaschen, darauf sammt dem Filter in die Platinschale zurückgebracht und bis zur vollständigen Verbrennung aller Kohle geglüht. Die salzsaure Lösung der gesammten Asche wird in der Kälte mit essigsaurem Ammon versetzt, das herausgefallene phosphorsaure Eisenoxyd auf einem Filter gesammelt und aus dem Filtrate die übrige Phosphorsäure mit Chlormagnesiummixtur gefällt. Der geglühte und gewogene Niederschlag von phosphorsaurem Eisenoxyd wird in Schwefelsäure gelöst, mit Zink reducirt und mit Kaliumpermanganat titrirt. Auf diese Weise wurden gefunden:

$$0{,}0378\ Fe_2P_2O_8 = \left\{\begin{array}{l} 0{,}01402\ Fe;\ \text{durch Titriren: } 0{,}0132\ Fe;\ \text{Mittel:} \\ \qquad\qquad 0{,}0136\ Fe = 0{,}287\%\ Fe. \\ 0{,}00776\ P. \end{array}\right.$$

$$0{,}8501\ Mg_2P_2O_7 = \underline{0{,}2374\ P.}$$

$$0{,}2452\ P = 5{,}172\%\ P.$$

6. 4,7769 gr. mit 2 gr. Na_2CO_3 in derselben Weise eingeäschert, gaben:

$$0{,}0381\ Fe_2P_2O_8 = \left\{\begin{array}{l} 0{,}01413\ Fe;\ \text{durch Titriren: } 0{,}0136\ Fe;\ \text{Mittel:} \\ \qquad\qquad 0{,}0139\ Ee = 0{,}291\%\ Fe. \\ 0{,}00782\ P. \end{array}\right.$$

$$0{,}8566\ Mg_2P_2O_7 = \underline{0{,}2392\ P.}$$

$$0{,}2470\ P = 5{,}171\%\ P.$$

7. 1,9994 gr. werden mit 8 gr. Kalisalpeter und 16 gr. Aetzkali in Wasser gelöst, in der Silberschale eingedampft und eingeäschert. Die vollkommen kohlenfreie Schmelze wird in Wasser gelöst, mit Salpetersäure übersättigt und die Phosphorsäure mit Molybdänlösung in der bekannten Weise ausgefällt etc.
   Es wurden erhalten 0,3721 $Mg_2P_2O_7$ = 5,198% P.
8. 2,2198 gr. werden mit 5 gr. Kalisalpeter und 10 gr. Aetzkali gelöst, in der Silberschale eingedampft und eingeäschert. Aus der salpetersauren Lösung der Schmelze wird die Schwefelsäure mit salpetersaurem Baryt gefällt, aus dem Filtrate die Phosphorsäure mit Molybdänlösung. Der Niederschlag von schwefelsaurem Baryt wird durch Zusammenschmelzen mit Na_2CO_3 aufgeschlossen, die Schmelze mit heissem Wasser extrahirt, das Filtrat mit Salzsäure angesäuert und mit einem möglichst geringen Ueberschusse von Chlorbaryum nochmals die Schwefelsäure gefällt. Auf diese Weise wurden erhalten:
   0,0872 $BaSO_4$ = 0,5395% S.
   0,4153 $Mg_2P_2O_7$ = 5,255 % P.
9. 2,1289 gr. werden mit 5 gr. Kalisalpeter und 10 gr. Aetzkali gelöst, in der Silberschale eingedampft und eingeäschert. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, zunächst in einem Ballon zur Vertreibung der Kohlensäure und salpetrigen Säure mit Salzsäure übersättigt, darauf in eine Porzellanschale übergeführt und zur Vertreibung der noch übrigen Salpetersäure wiederholt mit concentrirter Salzsäure eingedampft. Aus der filtrirten salzsauren Lösung wird darauf mit Chlorbaryum die Schwefelsäure gefällt. Der geglühte Niederschlag wird mit heisser Salzsäure extrahirt, nochmals geglüht und gewogen. Auf diese Weise wurden erhalten: 0,0858 $BaSO_4$ = 0,5535% S.

Die Schwefelbestimmungen können nur zu niedrige, nicht zu hohe Werthe ergeben haben. Leider sind die Methoden der Schwefelbestimmung noch sehr ungenau.

In Bezug auf die Phosphorbestimmungen erscheint es mir beachtenswerth, dass beim Einäschern mit Na_2CO_3 die-

selben Werthe erhalten wurden, wie beim Einäschern mit Salpeter und Aetzkali. Die erstere Methode wird als die weit bequemere vorzuziehen sein.

Das Resultat der Analyse überblickt man in folgender Tabelle:

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	Mittel:
C	42,20	42,01	—	—	—	—	—	—	—	42,11
H	6 02	6,13	—	—	—	—	—	—	—	6,08
N	—	—	14,63 (V.W.)	14,82 (D.)	—	—	—	—	—	14,73
S	—	—	—	—	—	—	—	0,54	0,55	0,55
P	—	—	—	—	5,17	5,17	5,20	5,23	—	5,19
Fe	—	—	—	—	0,287	0,291	—	—	—	0,29
O	—	—	—	—	—	—	—	—	—	31,05

Ob die analysirte Substanz ein chemisches Individuum ist, lässt sich vorläufig nicht entscheiden. Dennoch glaube ich, dass der kürzeren Verständigung wegen ein Name für dieselbe ebensowenig entbehrt werden kann, wie für die Albuminate oder Nucleïne. Ich schlage den Namen «Hämatogen» vor. Hämoglobinogen wäre passender, aber zu lang.

Wäre das Hämatogen ein chemisches Individuum, so hätten wir es jedenfalls mit einer Verbindung zu thun, welche unter allen bisher untersuchten die complicirteste ist. Selbst das Hämoglobin, von dem wir wissen, dass es wenigstens 600 Atome Kohlenstoff im Moleküle enthält, wäre nur ein Spaltungsprodukt des Hämatogens. Das Hämatogen selbst aber ist — wie aus der Darstellungsweise mit grosser Wahrscheinlichkeit hervorgeht — nur ein Spaltungsprodukt aus denjenigen complicirten Molekülen, welche das Protoplasma der Eizelle zusammensetzen.

Ohne Zweifel liefert das Hämatogen das Material zur Hämoglobinbildung. Dabei muss jedoch in dem abgespaltenen eisenhaltigen Moleküle eine tiefgreifende Umlagerung der Atome eintreten, wobei das Eisen aus einem locker gebundenen in einen sehr fest gebundenen Zustand übergeht. Das Hühnerblut-Hämoglobin ist bisher nicht analysirt worden. Das einzige bisher analysirte Vogelblut-Hämoglobin ist das aus dem Gänse-

blut. Ich stelle daher zur Uebersicht die von Hoppe-Seyler[1]) ausgeführte Analyse dieser Hämoglobinart mit der Analyse des Hämatogens zusammen und füge noch Kossel's[2]) Analyse des Hefenucleïns hinzu, welches — abgesehen vom Eisen — eine dem Hämatogen auffallend ähnliche Zusammensetzung hat.

	Nucleïn	Hämatogen	Hämoglobin
C	40,81	42,11	54,26
H	5,38	6,08	7,10
N	15,98	14,73	16,21
S	0,38	0,55	0,54
P	6 19	5,19	(0,77 PO_5)
Fe	—	0,29	0,43
O	31,26	31,05	20,69

Mit einer eingehenden Untersuchung der Spaltungsprodukte des Hämatogens bin ich beschäftigt.

Als Ergebniss meiner bisherigen Untersuchungen über die Eisenverbindungen der Milch möchte ich vorläufig nur soviel als wahrscheinlich hinstellen, dass das Eisen auch hier nicht als Salz, sondern in einer dem Hämatogen ähnlichen organischen Verbindung sich findet.

Dasselbe gilt von unseren wichtigsten vegetabilischen Nahrungsmitteln, den Ceralien und Leguminosen. Soweit ich dieselben bisher untersucht habe, scheint es, dass sie anorganische Eisenverbindungen höchstens in kaum nachweisbaren Spuren enthalten.

Ich glaube daher schon jetzt den Satz aussprechen zu dürfen: Unsere Nahrung enthält keine anorganischen Eisenverbindungen. Das Eisen findet sich in unserer Nahrung nur in Form complicirter organischer Verbindungen, die durch den Lebensprozess der Pflanze erzeugt werden. In dieser Form wird das Eisen resorbirt und assimilirt; aus diesen Verbindungen bildet sich das Hämoglobin.

Wir müssen uns nun die Frage vorlegen: wie lässt sich

---

1) Hoppe-Seyler: Beiträge zur Kenntniss des Blutes des Menschen und der Wirbelthiere. Medic.-chem. Unters., S. 194, 1867.

2) A. Kossel: Ueber das Nucleïn der Hefe; diese Zeitschrift, Bd. III, S. 284, 1879.

mit dieser Anschauung die Thatsache in Einklang bringen, dass die anorganischen Eisenpräparate bei Chlorotischen die Hämoglobinbildung befördern?

Als Thatsache können wir diesen Zusammenhang wohl gelten lassen: die Uebereinstimmung aller Aerzte in dieser Frage ist eine so vollständige und hat sich so hartnäckig durch eine lange Reihe von Jahren behauptet, dass auch ein skeptischer Beurtheiler seinen Zweifel aufgeben muss. Thatsache ist es nun aber ferner, dass die anorganischen Eisenpräparate nicht resorbirt und dass mit der normalen Nahrung nur organische Eisenverbindungen aufgenommen werden.

Eine Lösung dieses Widerspruchs glaube ich in der Annahme zu finden, dass die anorganischen Eisensalze in irgend einer Weise die organischen Eisenverbindungen vor der Zersetzung im Darme, vor der Abspaltung des Eisens bewahren. Dass die Anhäufung eines Spaltungsproduktes die weitere Abspaltung desselben verhindert, ist eine Erscheinung, für welche sich zahllose Analogien anführen lassen, die in dem Berthollet-schen Gesetze der «Massenwirkung» ihren allgemeinen Ausdruck finden.

Mit dieser Annahme im besten Einklange steht die sonst ganz unerklärliche Thatsache, dass die Eisenpräparate bei der Chlorose nur in sehr grossen Dosen als wirksam sich erweisen, in Dosen, welche in gar keinem Verhältnisse stehen zu der geringen Eisenmenge, deren unser Organismus zur Hämoglobinbildung bedarf. Es handelt sich eben um eine «Massenwirkung».

Die Annahme steht ferner im besten Einklang mit der Thatsache, dass Verdauungsstörungen, katarrhalische Zustände der Magen- und Darmschleimhaut, welche abnorme Gährungs- und Zersetzungsvorgänge im Darminhalte hervorrufen, zu den constanten Symptomen der Chlorose gehören. Dass hierbei eine so leicht zersetzliche Substanz, wie das Hämatogen unter Abspaltung von Eisenoxyd zerfallen kann, ist keineswegs unwahrscheinlich. Das Hämatogen scheidet sich bei der Magenverdauung als unlösliche Verbindung ab

und kann vielleicht erst im unteren Theile des Darmes, wo die Reaktion des Chymus alkalisch wird[1]), zur Resorption gelangen. Auf diesem langen Wege ist natürlich die Gefahr der Zersetzung sehr gross.

Insbesondere wäre es möglich, dass die Zerstörung der organischen Eisenverbindungen im Darme durch Schwefelalkalien bewirkt wird. Gelangen die Fermentorganismen, welche die buttersaure Gährung hervorrufen — in Folge ungenügender Secretion der antiseptischen Salzsäure im Magen — in den Darm, so kommt es dort zur Entwickelung von Wasserstoff und zur Bildung von Schwefelalkalien aus schwefelsauren Salzen. Die Schwefelalkalien zerstören, wie meine Versuche gezeigt haben, das Hämatogen. Die anorganischen Eisenpräparate aber müssen den Schwefel binden, bevor er auf die organischen Eisenverbindungen einwirken kann.

Mit dieser Annahme auf's Beste vereinbar wäre die in neuester Zeit gemachte Angabe[2]), dass durch Darreichung von Salzsäure (2 bis 4 : 200, nach dem Essen 1 bis 2 Esslöffel) die Chlorose noch erfolgreicher sich behandeln lasse als mit Eisenpräparaten. Die Salzsäure ist das normale Antisepticum.

Schliesslich findet durch meine Hypothese auch die Thatsache ihre Erklärung, dass die Eisenpräparate nur bei der Chlorose, nicht aber bei anderen Formen der Anämie sich als wirksam erweisen. Bei allen denjenigen Formen der Anämie, bei welchen die Ursache der gestörten Blutbildung jenseits der Darmwand ihren Sitz hat, müssen die unresorbirbaren Eisenpräparate natürlich wirkungslos sein.

---

[1]) Der bei der Einwirkung des Magensaftes entstehende hämatogenhaltige Niederschlag (confr. oben S. 51) löst sich leicht in verdünnter Lösung von kohlensaurem Natron. Nach der Behandlung mit Alkohol wird das Hämatogen in kohlensaurem Natron unlöslich; es löst sich dann nur noch in freien Alkalien.

[2]) Zander: Zur Lehre von der Aetiologie, Pathogenie und Therapie der Chlorose. Virchow's Archiv, Bd. 84, S. 177, 1881.

Analyse der anorganischen Bestandtheile des Muskels.

Von

G. Bunge.

(Der Redaktion zugegangen am 5. September 1884.)

Bei Gelegenheit einer bisher nicht veröffentlichten Untersuchung wurde die folgende Analyse der Asche des Rindfleisches ausgeführt. Ich theile dieselbe mit, weil die Methode der Analyse eine genauere war, als bei den bisherigen Analysen der Fleischasche und weil die bisherigen ungenauen Analysen vielfach physiologischen Untersuchungen und Betrachtungen als Grundlage gedient haben.

Die bei der vorliegenden Analyse befolgte Methode war dieselbe, welche ich in meinen früheren Mittheilungen[1]) bereits eingehend beschrieben habe.

1. 175,702 gr. des frischen, von Fett, Bindegewebe, Sehnen, grösseren Gefässstämmen etc. möglichst befreiten Muskelfleisches, mit einer Lösung von kohlensaurem Natron digerirt, eingedampft und eingeäschert, gaben:

$$0{,}0125\ Fe_2P_2O_8 = \begin{cases} 0{,}00588\ P_2O_5 \\ 0{,}00662\ Fe_2O_3 = 0{,}00377\%\ Fe_2O_3 \end{cases}$$

$$0{,}0145\ CaO = 0{,}00825\%\ CaO$$

$$0{,}2020\ Mg_2P_2O_7 = 0{,}07279\ MgO = 0{,}0414\%\ MgO$$

$$\underline{1{,}0645\ Mg_2P_2O_7}$$

$$1{,}2665\ Mg_2P_2O_7 = 0.8101\ P_2O_5$$

$$\underline{0{,}0059\ P_2O_5}$$

$$0{,}8160\ P_2O_5 = 0{,}4644\%\ P_2O_5.$$

1) Zeitschrift für Biologie, Bd. X, S. 295, 1874 und Bd. XII, S. 214, 1876. — Liebig's Annalen, Bd. 172, S. 16, 1874.

2. 123,782 gr. Fleisch gaben nach derselben Methode:

$$0{,}0145\ Fe_2P_2O_8 = \begin{cases} 0{,}00682\ P_2O_5 \\ 0{,}00768\ Fe_2O_3 = 0{,}00621\%\ Fe_2O_3 \end{cases}$$

$0{,}0110\ CaO = 0{,}00889\%\ CaO$

$0{,}1405\ Mg_2P_2O_7 = 0{,}05063\ MgO = 0{,}0409\%\ MgO$

$0{,}7590\ Mg_2P_2O_7$

$0{,}8995\ Mg_2P_2O_7 = 0{,}57536\ P_2O_5$

$0{,}00682\ P_2O_5$

$0{,}58218\ P_2O_5 = 0{,}4703\%\ P_2O_5.$

3. 86,096 gr. Fleisch geben 0,7594 $KCl + NaCl$; daraus 2,0794 gr. K_2PtCl_6; daraus berechnet: 0,4654% K_2O und 0,07698% Na_2O.

4. 71,158 gr. Fleisch mit 3 gr. Na_2CO_3 eingeäschert, gaben 0,1933 gr. $AgCl$ = 0,06716% Cl.

Indem ich die Resultate der Analyse zusammenstelle, füge ich zum Vergleiche noch eine zweite Analyse der Fleischasche hinzu, welche ich an fettreichem Rindfleisch ausgeführt und zum Theil bereits veröffentlicht habe[1]).

Auf 1000 Gewichtstheile kommen im:

	fettfreien Rindfleisch.	fettreichen Rindfleisch.
K_2O	4,654	4,160
Na_2O	0,770	0,811
CaO	0,086	0,072
MgO	0,412	0,381
Fe_2O_3	0,057	—
P_2O_5	4,671	4,580
Cl	0,672	0,709
SO_3 [2])	—	0,010
S [3])	—	2,211

In Bezug auf den Stoffwechsel bei Fleischnahrung scheint es mir beachtenswerth, dass die Menge der Schwefelsäure, welche aus der Spaltung und Oxydation der Muskelalbuminate hervorgehen kann, allein ausreicht, alle basischen Bestandtheile des Muskels zu sättigen, wie die folgende Berechnung zeigt.

---

1) Zeitschrift für Biologie, Bd. IX, S. 118, 1873.

2) Präformirte Schwefelsäure, im Wasserextrakt ohne Einäscherung bestimmt.

3) Gesammtschwefel durch Einäschern mit Aetzkali und Salpeter bestimmt.

2,211 S	= 5,527 SO_3	sättigen	4,284 Na_2O
4,160 K_2O	= 2,737 Na_2O		
0,811 Na_2O	= 0,811 Na_2O		
0,072 CaO	= 0,080 Na_2O		
0,381 MgO	= 0,591 Na_2O		
	4,219 Na_2O		4,284 Na_2O

Von dem Schwefel der Nahrung erscheint in der That der grösste Theil als Schwefelsäure im Harn, bei meinem Versuche[1]) bis 85%. Ausser der Schwefelsäure enthält der Muskel von elektronegativen Bestandtheilen noch die bedeutende Menge Phosphorsäure und Chlor. Dem Organismus stehen jedoch vielfache Mittel zu Gebote, das Auftreten freier Mineralsäuren zu verhindern: die Bildung von Ammoniak, Kreatinin, unterschwefliger Säure (beim Fleischfresser und beim fiebernden Menschen), gepaarten Schwefelsäuren.

---

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. IX, S. 121, 1873.

Untersuchungen über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen.

Unter Betheiligung von **J. Barbieri** und **E. Bosshard** ausgeführt

von

E. Schulze[1].

(Aus dem agriculturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. September 1884.)

Die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Säuren und durch Alkalien erhalten werden, sind schon von verschiedenen Forschern untersucht worden. Es kann nicht unsere Absicht sein, an dieser Stelle einen Ueberblick über die betreffenden Untersuchungen zu geben; aber wir müssen doch zwei derselben erwähnen, auf welche im Folgenden öfters Bezug genommen werden muss — die umfassenden Arbeiten nämlich, welche von Hlasiwetz und Habermann[2]) und von Schützenberger[3]) ausgeführt wurden. Die zuerst genannten Forscher zersetzten die Eiweisssubstanzen durch Erhitzen mit Salzsäure und Zinn-

---

1) Referat von E. Schulze.

2) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 169, S. 150, sowie auch Journal für praktische Chemie [2], Bd. 7, S. 397.

3) Die ausführlichste Abhandlung Schützenberger's findet sich in den Annales de chimie et de physique, 5. Serie, Bd. 16, S. 289. Andere Publikationen sind von ihm erfolgt in dem Bulletin de la Société chimique de Paris, N. S. Bd. 23, S. 161 und 216; Bd. 24, S. 2 und 145; Bd. 25, S. 147; einzelne Mittheilungen finden sich auch in den Comptes rendus. Diese Arbeiten sind wiedergegeben in dem Chemischen Centralblatt 1875, S. 614, 631, 648, 681 und 696; 1876 S. 280; 1877 S. 181.

chlorür; sie zeigten, dass Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin und Tyrosin die wesentlichen Bestandtheile des dabei erhaltenen Amidosäurengemenges sind. Die daraus abgeleitete Schlussfolgerung, dass nur diese vier Amidosäuren bei jener Zersetzung entstehen, konnte freilich insofern nicht als eine ganz sichere hingestellt werden, als es möglich ist, dass bei der durch wiederholtes Umkrystallisiren bewirkten Reinigung jener Produkte andere nur in geringer Menge vorhandene Amidosäuren in die Mutterlaugen übergingen und sich so der Beobachtung entzogen. Schützenberger zerlegte die Eiweissstoffe durch mehrtägiges Erhitzen mit Barytwasser in einem luftdicht verschlossenen Gefäss. Dabei erhält man nach seinen Angaben ausser Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tyrosin und Leucin auch noch Homologe des letzteren (Amidobuttersäure, Amidovaleriansäure u. s. w.), sowie Körper, welche sich von den Leucinen in der Zusammensetzung dadurch unterscheiden, dass sie wasserstoffärmer sind. Schützenberger bezeichnet diese letzteren Substanzen als Leuceine und hält es für wahrscheinlich, dass sie Amidosäuren der Acrylsäurereihe seien. In geringer Menge endlich traten noch zwei von Schützenberger als Glutiminsäure und Tyroleucin bezeichnete Körper unter den Produkten der Zersetzung auf[1]).

Was nun die Gründe betrifft, durch welche der Verfasser veranlasst wurde, sich mit diesem Gegenstande näher zu beschäftigen, so waren es an Keimpflanzen gemachte Beobachtungen, welche die erste Anregung dazu gaben. In einer Arbeit, welche der Verfasser in Verbindung mit J. Barbieri

---

[1]) Schützenberger hat für die Abscheidung der Asparaginsäure, Glutaminsäure, und Glutiminsäure die Fällbarkeit derselben durch salpetersaures Quecksilberoxyd benutzt; die Glieder der Leucinreihe und die Leuceine hat er durch fraktionirte Krystallisation aus verdünntem Weingeist zu trennen gesucht. Die so gewonnenen Produkte, welche sämmtlich der Elementaranalyse unterworfen wurden, erklärt er theils für chemisch einfache Substanzen, theils für Gemenge (oder lockere Verbindungen im Aequivalentverhältnisse); welche Gemengtheile darin vorhanden waren, sucht er aus den Ergebnissen der Elementaranalyse abzuleiten.

ausführte[1]), wurde nachgewiesen, dass in Lupinenkeimlingen eine Phenylamidopropionsäure enthalten ist. Da dieselbe höchstwahrscheinlich während der Keimung durch Zerfall von Eiweissstoffen entsteht, so erschien es wünschenswerth zu prüfen, ob sie sich auch unter den Produkten vorfindet, welche bei der Zersetzung von Eiweissstoffen durch Säuren oder durch Barytwasser entstehen. Man hätte ja allerdings meinen können, dass diese Frage schon entschieden sei; denn keiner von denjenigen Forschern, welche sich früher mit Untersuchung des bei der Eiweisszersetzung entstehenden Stoffgemenges beschäftigt haben, erwähnt das Vorhandensein eines derartigen Körpers. Da aber die Zergliederung jenes Gemenges beträchtliche Schwierigkeiten darbietet und da insbesondere Bestandtheile, welche darin nur in geringer Menge enthalten sind, sich leicht der Beobachtung entziehen können, so erschien es sehr wohl möglich, dass in demselben Phenylamidopropionsäure zwar vorhanden, aber früher übersehen worden sei. Eine solche Annahme konnte um so weniger für unwahrscheinlich erklärt werden, als auch einige schon länger bekannte Thatsachenn dafür sprachen, dass in jenem Stoffgemenge eine zu den Monosubstitutionsprodukten des Benzols gehörende Amidosäure sich vorfindet — worauf F. Tiemann[2]) schon vor einigen Jahren aufmerksam gemacht hat.

Nachdem der Nachweis der Phenylamidopropionsäure geglückt war[3]), drängte sich noch die Frage auf, ob das Amidosäurengemenge, welches bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Barytwasser entsteht, von dem bei Einwirkung von Säuren gebildeten wirklich eine so beträchtliche Verschiedenheit zeigt, wie nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen angenommen werden müsste. Um diese Frage, deren Entscheidung für die Erkenntniss der Constitution der Eiweiss-

---

[1]) Berliner Berichte, Bd. 14, S. 1785, sowie Journal für praktische Chemie, [2], Bd. 27, S. 337.

[2]) Berliner Berichte, Bd. 13, S. 385.

[3]) Eine kurze Mittheilung darüber ist schon in den Berliner Berichten Bd. 16, S. 1711 erfolgt.

körper ohne Zweifel von Wichtigkeit ist, einer Lösung näher zu bringen, haben wir die gleiche Eiweisssubstanz, sowohl durch Salzsäure, als auch durch Barytwasser zerlegt und die dabei erhaltenen Amidosäuren-Gemenge möglichst eingehend untersucht. Eine vollständige Zergliederung dieser Gemenge ist uns freilich nicht gelungen und es will uns auch fast scheinen, als ob die verfügbaren Mittel dafür nicht hinreichen; wir haben also die obige Frage nicht völlig zu lösen vermocht. Immerhin können wohl die dabei gewonnenen Resultate einiges Interesse beanspruchen.

Das Ausgangsmaterial für unsere Untersuchungen bildeten hauptsächlich zwei vegetabilische Eiweisssubstanzen, dargestellt aus den Kürbiskernen und aus den Samen der gelben Lupine; doch wurde für einige Versuche auch Casein verwendet. Die Eiweisssubstanz der Kürbiskerne ist vor einigen Jahren von J. Barbieri[1]), später von G. Grübler[2]) untersucht worden; dem Letzteren gelang es sie in den krystallinischen Zustand überzuführen. Die Eiweisssubstanz der Lupinen ist bekanntlich von Ritthausen, welcher sie zuerst untersuchte, mit dem Namen Conglutin belegt worden[3]); wir wollen diese Bezeichnung im Folgenden beibehalten. Beide Substanzen sind nach der von Hoppe-Seyler gegebenen Eintheilung der Eiweisssubstanzen zu den Globulinen zu rechnen.

Bei der Darstellung des Conglutins befolgten wir im Wesentlichen die von Ritthausen gegebene Vorschrift[4]). Die fein gepulverten Lupinensamen wurden mit kalihaltigem Wasser extrahirt, die durch Abhebern vom Ungelösten ge-

---

1) Journal für praktische Chemie, [2], Bd. 18, S. 102.

2) Ebendaselbst, Bd. 23, S. 97.

3) Nach den neuesten Untersuchungen Ritthausen's (Journal für praktische Chemie, [2], Bd. 26, S. 422) ist die aus Lupinensamen darstellbare Eiweisssubstanz ein Gemenge von Conglutin mit etwas Legumin; für die Zwecke, welche wir bei dieser Untersuchung verfolgten, ist dieser Umstand nicht von Belang.

4) Ritthausen: Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte, etc., S. 189.

trennten Extrakte vorsichtig mit Essigsäure (bei späterer Darstellung mit verdünnter Salzsäure) versetzt, bis das Conglutin sich in Form eines flockigen Niederschlages ausschied. Derselbe wurde durch Decantiren mit Wasser ausgewaschen, darauf in sehr verdünnter Kalilauge gelöst und aus der durch ein Seihtuch filtrirten Lösung durch Säure wieder ausgefällt, der so erhaltene Niederschlag successive mit Wasser, verdünntem Weingeist, starkem Weingeist und Aether ausgewaschen, schliesslich im Trockenschrank bei gelinder Wärme getrocknet.

Nicht die Gesammtmenge des für unsere Versuche verwendeten Conglutins wurde von uns selbst dargestellt; ein Quantum von 700 gr. (gleichfalls nach Ritthausen's Methode dargestellt) bezogen wir von G. Grübler in Leipzig.

Die Eiweisssubstanz der Kürbissamen stellten wir in folgender Weise dar: Die grob zerkleinerten Kürbissamen wurden mit Petroläther macerirt; während in letzterem das Fett sich löste, fielen die Proteinkörner, welche neben dem Fett den Hauptbestandtheil der Kerne bilden, zum grössten Theile aus den Zellen heraus und sammelten sich am Boden des Extraktionsgefässes als weisse pulverige Schicht an, natürlich gemengt mit den Samenschaalen. Von letztern lassen sie sich ziemlich vollständig trennen, wenn man sie mittelst des Petroläthers durch ein Sieb hindurchspült. Die so erhaltene Masse wurde durch nochmaliges Behandeln mit Petroläther, zuletzt mit gewöhnlichem Aether von Fett befreit, sodann mit sehr verdünnter Kalilauge behandelt. Der geklärten und vom Bodensatz abgeheberten Lösung fügten wir Essigsäure in kleinen Antheilen zu; die Eiweisssubstanz schied sich in Form eines flockigen Niederschlages aus. Derselbe wurde zuerst durch Decantation mit Wasser ausgewaschen, sodann successive mit verdünntem Weingeist, starkem Weingeist und Aether behandelt, schliesslich bei gelinder Wärme getrocknet.

Das Kürbisglobulin unterwarfen wir nur der Zersetzung mittelst Salzsäure; vom Conglutin haben wir eine Portion durch Salzsäure, eine andere durch Barytwasser zersetzt.

In Betreff der in dieser Arbeit mitgetheilten Elementar-Analysen[1]) ist Folgendes im Voraus zu bemerken: für die C- und H-Bestimmung wurden die Substanzen mit Kupferoxyd unter Vorlegung von metallischem Kupfer oder metallischem Silber verbrannt. Alle Verbrennungen wurden im Sauerstoffstrome vollendet.

Die Stickstoffbestimmungen wurden sämmtlich nach der Kjeldahl'schen Methode[2]) ausgeführt. Dem günstigen Urtheile, welches über dies Verfahren von anderer Seite gefällt worden ist, können auch wir beistimmen. Controlversuche mit Asparagin und Asparaginsäure lieferten folgende Zahlen:

	N-Gehalt	
	berechnet:	gefunden:
Asparagin ($C^4H^8N^2O^3$ + aq) .	18,67%	18,65%
do. .	18,67 «	18,53 «
Asparaginsäure ($C^4H^7NO^4$) . .	10,53 «	10,43 «

Dass die Methode speciell zur Bestimmung des Stickstoffgehalts der Amidosäuren höchst geeignet ist, dürfte auch wohl aus den in dieser Abhandlung später mitgetheilten Versuchsresultaten zu schliessen sein.

Bei Ausführung der betreffenden Bestimmungen wurde das Ammoniak aus der bei Behandlung der Amidosäuren mit Schwefelsäure u. s. w. erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit durch Destillation mit Natronlauge ausgetrieben und in verdünnter Schwefelsäure von bekannter Stärke aufgefangen, letztere sodann mit Barytwasser zurücktitrirt. Bei Mittheilung der Resultate haben wir im Folgenden stets die Cubiccentimeter Barytwasser angegeben, welche den durch das Ammoniak neutralisirten Schwefelsäure-Mengen entsprechen. Es kamen im Laufe der Untersuchung drei verschiedene Barytlösungen zur Verwendung; dieselben sind mit a, b und c bezeichnet und hatten folgende Titer:

Barytwasser	a:	1	cbcm.	= 0,003998	gr. N
«	b:	1	«	= 0,003922	« «
«	c:	1	«	= 0,0040555	« «

---

[1]) Dieselben wurden theils von J. Barbieri, theils von E. Bosshard ausgeführt.

[2]) Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 22, S. 366.

Alle für die Elementar-Analysen verwendeten Substanzproben sind, falls nicht etwas anderes bemerkt worden ist, im Luftbade bei 100° ausgetrocknet worden.

I. Zersetzung der aus Kürbissamen dargestellten Eiweisssubstanz durch Salzsäure.

Wir führten die Zersetzung nach den von Hlasiwetz und Habermann gegebenen Vorschriften aus[1]); 100 Gewichtstheile Eiweisssubstanz wurden mit 75 Gewichtstheilen Zinnchlorür, 200 Volumtheilen concentr. Salzsäure und 200 Volumtheilen Wasser drei bis vier Tage lang am Rückflusskühler erhitzt[2]). Nach dem Erkalten verdünnten wir die Flüssigkeit mit Wasser, fällten das Zinn durch Schwefelwasserstoff aus und dunsteten die vom Schwefelzinn ablaufende Lösung bis zum Syrup ein. Denjenigen Theil der Salzsäure, welcher nicht schon während des Eindampfens entwichen war, entfernten wir im ersten Versuche ausschliesslich durch Eintragen von feuchtem Silberoxyd in die zuvor durch Wasser verdünnte Flüssigkeit; in den späteren Versuchen, in denen grössere Eiweissquantitäten verarbeitet wurden, führten wir den grössten Theil der nach dem Eindunsten noch in der Flüssigkeit vorhandenen Salzsäure in die Bleiverbindung über[3]); die vom Chlorblei abfiltrirte Lösung behandelten wir mit Schwefelwasserstoff und trugen dann so lange Silberoxyd in dieselbe ein, bis die Salzsäure bis auf einen geringen Rest entfernt war[4]).

---

[1]) Nach J. Horbaczewski (Chem. Centralblatt 1879, S. 778) kann man die Zinnchlorürmenge sehr verringern, ohne dass die Resultate sich ändern.

[2]) Das Erhitzen wurde in den ersten Versuchen in einem Glaskolben, später in einem innen emaillirten eisernen Gefässe ausgeführt. Das letztere hatte die Form eines tiefen Kesselchens. Es war mit einem dicht schliessenden Deckel versehen; in demselben befand sich ein Tubulus, in welchem das eine Ende eines Liebig'schen Kühlers eingefügt wurde.

[3]) Durch Zusatz von Bleiacetat oder durch Eintragen von Bleioxydhydrat.

[4]) Die bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure erhaltene Flüssigkeit enthält auch Chlorammonium. Trägt man Silberoxyd im

Die Resultate unseres ersten Versuchs, für welchen nur 120 gr. Eiweisssubstanz verwendet wurden, haben wir schon in einer früheren Abhandlung[1]) mitgetheilt; wir rekapituliren dieselben aber an dieser Stelle, weil sie eine Ergänzung zu den später ausgeführten Arbeiten bilden — weil die betreffenden Mittheilungen ferner Aufschlüsse über den Gang geben, welchen wir bei Zerlegung des Amidosäurengemenges einhielten (welcher Gang übrigens den von Hlasiwetz und Habermann gegebenen bewährten Vorschriften entspricht[2]).

Nachdem die Zersetzungsflüssigkeit durch Silberoxyd von der Salzsäure befreit worden war, dunsteten wir dieselbe stark ein; beim Erkalten krystallisirte Tyrosin zum allergrössten Theile[3]) aus (leicht zu erkennen an seinem Aussehen und an seinen Reaktionen).

Die davon abfiltrirte Flüssigkeit dunsteten wir ein, bis auf der Oberfläche eine Haut sich bildete; sie lieferte nun beim Erkalten in reichlicher Menge eine Ausscheidung, welche hauptsächlich aus Leucin bestand[4]). Die übrig bleibende Mutterlauge wurde mit Kupferoxydhydrat gesättigt und sodann nach und nach mit Bleiessig zersetzt; es entstand ein Niederschlag, welcher, wie die nähere Untersuchung zeigte, hauptsächlich asparaginsaures Blei enthielt, daneben aber auch etwas glutaminsaures Blei einschloss[5]). Die davon abgelaufene Flüssigkeit behandelten wir mit Schwefelwasser-

---

Ueberschuss ein, so entsteht in der Flüssigkeit freies Ammoniak; letzteres löst Chlorsilber auf. Es ist daher zweckmässig, Silberoxyd nur so lange zuzusetzen, bis die Flüssigkeit aufhört, sauer zu reagiren.

[1]) Journal für praktische Chemie [2], Bd. 20, S. 410.

[2]) Nur insofern verfuhren wir in diesem Falle anders, als wir nicht vor Entfernung der Salzsäure aus der Zersetzungsflüssigkeit salzsaure Glutaminsäure zur Abscheidung brachten.

[3]) Eine geringe Menge von Tyrosin findet sich aber noch in den später erfolgenden hauptsächlich aus Leucin bestehenden Krystallisationen — selbst noch in denen, welche man aus letzten Mutterlaugen erhält.

[4]) Das Rohprodukt schliesst verschiedene Beimengungen ein und weicht in Folge davon in seinem Aussehen vom reinen Leucin beträchtlich ab; es bildet eine krümliche, nicht deutlich krystallinische Masse.

[5]) Die Identificirung der beiden Säuren geschah durch Untersuchung der Kupfersalze, sowie durch N-Bestimmungen.

stoff und dunsteten sie sodann weiter ein; beim Stehen erfolgte eine der Menge nach nicht sehr beträchtliche Ausscheidung, welche vermuthlich grösstentheils noch aus Leucin bestand. In die davon abfiltrirte Mutterlauge trugen wir in der Hitze Baryumcarbonat im Ueberschuss ein; dann filtrirten wir, dunsteten das Filtrat auf ein geringes Volumen ein und versetzten mit Weingeist; es entstand eine syrupartige Ausscheidung, welche glutaminsaures Baryum enthielt. Sie wurde in Wasser gelöst, das Baryum mittelst Schwefelsäure ausgefällt, die vom Baryumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit bis zum dünnen Syrup eingedunstet; da dieser Syrup auch bei längerem Stehen nur wenig Glutaminsäurekrystalle lieferte (wahrscheinlich deshalb, weil diese Säure durch Beimengungen am Auskrystallisiren verhindert wurde[1]), so verdünnten wir sie mit Wasser, sättigten die Flüssigkeit mit Kupferoxydhydrat und setzten darauf Silbernitrat zu. Der nach einiger Zeit sich abscheidende Niederschlag lieferte, entsprechend den von Hlasiwetz und Habermann gemachten Angaben, bei der Zerlegung durch Schwefelwasserstoff fast reine Glutaminsäure.

Die weingeistige Flüssigkeit, welche von dem durch Weingeist ausgefällten glutaminsauren Baryum abgegossen war, lieferte beim Verdunsten Krusten, welche das Aussehen des Rohleucins besassen, aber neben Leucin noch andere Amidosäuren einschlossen (wie sich aus den späteren Untersuchungen ergab). Schliesslich blieb eine ziemlich dickflüssige Mutterlauge übrig, welche bei langsamen Verdunsten sich in eine halbfeste, breiartige Masse verwandelte.

In der beschriebenen Weise erhielten wir aus dem Kürbisglobulin Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure und Glutaminsäure. Der Hauptzweck unser späteren Versuche war die Entschei-

---

[1]) Es würde richtiger gewesen sein, die Flüssigkeit vor dem Ausfällen des glutaminsauren Baryums eine Zeit lang mit Barytwasser zu kochen und dadurch das vorhandene Ammoniak auszutreiben (was wir bei einer späteren Darstellung auch gethan haben). Geschieht dies nicht, so fällt höchstwahrscheinlich nach Zusatz von Weingeist auch glutaminsaures Ammonium aus; dieses Salz erschwert dann vermuthlich das Auskrystallisiren der Glutaminsäure.

dung der Frage, ob unter den Zersetzungsprodukten neben den genannten vier Amidosäuren auch Phenylamidopropionsäure vorhanden sei. Fand sie sich vor, so musste bei Oxydation des Amidosäurengemenges Benzoesäure erhalten werden. Dies war in der That der Fall. Als wir eine Probe der letzten leucinhaltigen Krystallisation (welche erst erhalten wurde, nachdem die Glutaminsäure als Baryumsalz durch Weingeist ausgefällt worden war) einige Stunden lang am Rückflusskühler mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure erhitzten (wobei der Geruch des Benzaldehyds auftrat) und die Flüssigkeit sodann erkalten liessen, schied sich aus derselben ein im Aussehen und Verhalten mit Benzoesäure übereinstimmende Substanz aus. Sie krystallisirte in kleinen, in Wasser schwer löslichen Blättchen und Nadeln, schmolz im Capillarröhrchen bei 121°[1]) und sublimirte bei stärkerem Erhitzen; beim Eindampfen der wässerigen Lösung trat der eigenthümliche Geruch der Benzoesäure auf.

Das Auftreten dieser Säure in dem beschriebenen Versuch berechtigte zu der Schlussfolgerung, dass in dem bei Zersetzung des Kürbisglobulins entstandenen Stoffgemenge neben den früher genannten vier Amidosäuren noch eine andere, bisher nicht aufgefundene vorhanden sei; denn keine der ersteren gibt bei der Oxydation Benzoesäure[2]).

Da von vornherein anzunehmen war, dass die Isolirung der Benzoesäure liefernden Substanz nur gelingen konnte, wenn grössere Quantitäten der Eiweisszersetzungsprodukte in Arbeit genommen wurden, so war es unsere nächste Aufgabe, solche zu beschaffen. Wir haben daher ein Quantum von ca. 2 kg. der aus den Kürbissamen dargestellten Eiweisssubstanz[3]) der Zersetzung durch Salzsäure unter Zinnchlorürzusatz unterworfen. Die Zersetzungsflüssigkeit verarbeiteten

[1]) Den gleichen Schmelzpunkt zeigte bei Anwendung des gleichen Thermometers ein Benzoesäure-Präparat unserer Sammlung.

[2]) Dass bei der Oxydations des Tyrosins durch Chromsäure-Gemisch keine Benzoesäure entsteht, haben auch wir noch durch einen Versuch constatirt.

[3]) Die mühsame Darstellung desselben führte J. Barbieri aus.

wir in der früher beschriebenen Weise. Nach Entfernung der Salzsäure krystallisirte zunächst das Tyrosin aus; dann folgten Krystallisationen, welche hauptsächlich aus Leucin bestanden. Wir sammelten diese Krystallisationen, welche wir im Folgenden der Kürze halber als Roh-Leucin bezeichnen wollen, nach einander in drei verschiedenen Portionen auf. Die letzte dieser Portionen bestand hauptsächlich aus denjenigen Ausscheidungen, welche erst nach Entfernung der Glutamin- und Asparaginsäure aus der Flüssigkeit[1]) erhalten wurden.

Proben dieser drei Portionen wurden nun zunächst der Oxydation mittelst Chromsäuremischung unterworfen. Aus der ersten Portion erhielten wir keine Benzoesäure[2]), wohl aber aus der zweiten, mehr noch aus der dritten Portion.

Obwohl für die Identificirung der Benzoesäure die früher aufgeführten Merkmale wohl schon hinreichen, so haben wir doch nach Gewinnung einer etwas grösseren Quantität der betreffenden Säure es für wünschenswerth gehalten, auch einige Salze derselben zu untersuchen. Das Baryumsalz krystallisirte in Tafeln und Blättern, welche in Wasser ziemlich schwer löslich waren. In dem zuerst über Schwefelsäure, dann bei 100—110° getrockneten Salz wurde der Baryumgehalt bestimmt:

a) 0,5035 gr. Substanz gaben 0,3065 gr. $BaSO_4$
b) 0,3525 gr. Substanz gaben 0,2155 gr. $BaSO_4$

	Berechnet für $(C_7H_5O_2)^2Ba$	Gefunden: a.	b.
Ba	36,15%	35,79%	35,94%

Um das Silbersalz darzustellen, wurde eine mit Ammoniak neutralisirte Lösung der Säure mit Silbernitrat versetzt. Es schied sich ein weisser Niederschlag aus, welcher in viel heissem Wasser sich auflöste; die Lösung lieferte beim Erkalten feine

---

[1]) Diese Säuren wurden als Baryumsalze durch Weingeist aus der zwar stark concentrirten Flüssigkeit ausgefällt.

[2]) Während der Oxydation machte sich zwar der Geruch des Benzaldehyds bemerklich; aus der Flüssigkeit krystallisirte aber nach dem Erkalten keine Benzoesäure aus; es war vermuthlich nur eine sehr geringe Menge davon entstanden.

lange Blättchen, welche im Aussehen mit benzoesaurem Silber vollkommen übereinstimmten. Eine Silberbestimmung gab folgendes Resultate:

0,2150 gr. zuerst über Schwefelsäure, dann im Luftbade in gelinder Wärme getrocknete Substanz gaben 0,1015 gr. = 47,21 % Ag (die Theorie verlangt 47,16% Ag [1]).

Mit Eisenchlorid gab die neutralisirte Lösung der Säure einen röthlichen Niederschlag.

Diese Versuchsergebnisse bestätigen noch die aus den früher mitgetheilten Beobachtungen abgeleitete Schlussfolgerung, dass die bei der Oxydation des Amidosäurengemenges erhaltene Substanz Benzoesäure war.

Wie früher erwähnt wurde, lieferte die dritte Portion des Rohleucins die relativ grösste Benzoesäuremenge; diese Portion war es also, in der wir vorzugsweise nach Phenylamidopropionsäure zu suchen hatten. Ueber den Weg, welchen wir dabei einschlugen, ist Folgendes zu bemerken: Bei Untersuchung der aus Lupinenkeimlingen abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure hatten wir gefunden, dass dieselbe ein durch Schwerlöslichkeit ausgezeichnetes Kupfersalz gibt. Dasselbe scheidet sich sofort aus, wenn man eine heisse, wässerige Lösung der Säure mit Kupferoxydhydrat sättigt oder derselben Kupferacetat zufügt. Durch Ueberführung in diese Verbindung konnten wir die genannte Säure von der neben ihr in den Lupinenkeimlingen vorkommenden Amidovaleriansäure trennen. Es war zu versuchen, ob sie sich nicht in gleicher Weise auch vom Leucin trennen liess. Allerdings verhält sich reines Leucin gegen Kupferoxydhydrat und Kupferacetat fast ebenso, wie es oben für die Phenylamidopropionsäure angegeben worden ist; sättigt man aber eine unreine, noch andere Amidosäuren etc. enthaltende Leucinlösung mit Kupferoxydhydrat oder setzt ihr Kupferacetat zu,

---

[1]) Nach Gmelin's Handbuch der Chemie, Bd. 6, S. 35 schliesst das beim Glühen von benzoesaurem Silber zurückbleibende Silber häufig Kohle ein. Das im obigen Versuch erhaltene metallische Silber löste sich jedoch in Salpetersäure ohne Hinterlassung eines kohligen Rückstandes.

so erfolgt die Ausscheidung des Leucinkupfers langsam, häufig erst beim Eindampfen, aus stark verunreinigten Lösungen auch wohl gar nicht[1]). Die Ausscheidung der Kupferverbindung der Phenylamidopropionsäure schien durch Beimengungen weniger stark beeinflusst zu werden als diejenige des Leucinkupfers. Man durfte daher hoffen, dass bei fraktionirter Ausfällung einer sowohl Leucin wie Phenylamidopropionsäure enthaltenden Lösung die letztere vorzugsweise in die ersten Fraktionen des Niederschlags eingehen und sich so nach und nach vom Leucin trennen lassen werde.

Ein solches Resultat konnte insbesondere dann erwartet werden, wenn in der betreffenden Lösung auch noch geringe Mengen anderer Substanzen sich vorfanden, deren Gegenwart die Ausscheidung des Leucinkupfers verlangsamte.

Dies im Vorigen skizzirte Verfahren brachten wir in folgender Weise zur Ausführung: Die dritte Portion des Rohleucins wurde, nachdem sie unter möglichster Vermeidung von Verlusten durch einmaliges Umkrystallisiren aus Wasser gereinigt worden war[2]), in heissem Wasser gelöst; in die Lösung wurde so viel Kupferoxydhydrat eingetragen,

---

[1]) Das Verhalten der Kupferverbindungen der Amidosäuren ist früher schon von Hofmeister (Annalen der Chemie, Bd. 189, S. 6) beschrieben worden. Diese Kupferverbindungen scheinen sich bis zu einem gewissen Grade gegenseitig in Lösung halten zu können.

Wenn man die Mutterlauge, welche bei Verarbeitung des aus den Eiweisssubstanzen gewonnenen Stoffgemenges nach dem Auskrystallisiren des Tyrosins und eines Theils des Leucins übrig bleibt, mit Kupferoxydhydrat sättigt, so scheidet sich gar nichts aus. Erst in dem Masse, als man die darin enthaltenen Produkte von einander trennt, werden dieselben fällbar durch Kupferoxydhydrat.

Die Ausfällung des Leucins durch Kupferacetat wird durch Beimengungen länger verhindert, als die Ausfällung durch (in die Lösung eingetragenes) Kupferoxydhydrat.

[2]) Die von der ersten Ausscheidung abfiltrirte Mutterlauge wurde weiter eingedunstet, das beim Stehen sich Ausscheidende wieder gewonnen, die Mutterlauge weiter verarbeitet. Die verschiedenen, nach einander erhaltenen Ausscheidungen wurden auf Zeugfiltern abfiltrirt, mit verdünntem Weingeist gewaschen, mit Hülfe einer kleinen Presse zwischen Fliesspapier stark abgepresst, dann vereinigt. Sie bildeten eine nur noch

dass sie fast damit gesättigt war. Schon in der Wärme, reichlicher beim Erkalten, schieden sich Kupferverbindungen aus, welche abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und sodann vermittelst Schwefelwasserstoff zerlegt wurden. Nachdem constatirt worden war, dass die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Amidosäurenlösung mit Kupferacetat einen reichlichen Niederschlag gab[1]), unterwarfen wir sie einer fractionirten Fällung mit dem genannten Reagens; jeder der so erhaltenen Niederschläge wurde für sich abfiltrirt und sodann vermittelst Schwefelwasserstoff zerlegt. Die in der erwähnten Lösung vorhandene Substanz wurde auf solche Weise in vier Portionen zerlegt, von denen wir zunächst die beiden ersten (aus den zuerst erhaltenen Kupferniederschlägen stammend) weiter verarbeiteten. Portion II wurde in Wasser gelöst und die Lösung nur mit so viel Kupferacetat versetzt, dass ungefähr $1/8$ der gelösten Substanz ausgefällt wurde. Der Niederschlag wurde zerlegt, die daraus gewonnene Amidosäure mit Portion I vereinigt. Das Gemenge unterwarfen wir nun einer wiederholten fraktionirten Fällung mit Kupferacetat in der Weise, dass stets die zuerst erhaltenen Niederschläge weiter verarbeitet wurden.

So gelang es schliesslich, natürlich unter starker Verringerung des in Arbeit genommenen Materials, eine Substanz zu gewinnen, welche in ihren Eigenschaften mit der aus Lupinenkeimlingen abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure übereinstimmte.

Ehe wir die zur Identificirung derselben ausgeführten Versuche beschreiben, wollen wir über das zu ihrer Abscheidung aus dem Rohleucin benutzte Verfahren noch einige Bemerkungen machen. Ohne Zweifel lässt dieses Verfahren viel zu wünschen übrig. Es bedingt, wie jede andere auf dem Prinzip der fraktionirten Fällung beruhende Methode,

---

schwach gelb gefärbte, leicht zerreibliche Masse, welche dem unbewaffneten Auge als unkrystallinisch erschien.

1) Wäre dies nicht der Fall gewesen, so würden wir die Substanz in Wasser gelöst und durch Eintragen von Kupferoxydhydrat noch einmal ausgefällt haben.

grossen Substanzverlust und scheint nicht immer sicher zum Ziel zu führen — wenigstens haben wir nach demselben in einigen später zu beschreibenden Fällen aus dem bei Zersetzung der Eiweissstoffe erhaltenen Stoffgemenge die Phenylamidopropionsäure nicht zu isoliren vermocht. Vermuthlich ist ein gutes Resultat nur dann zu erzielen, wenn das in Arbeit genommene Material nicht zu arm an Phenylamidopropionsäure ist.

Versuche, welche behufs Auffindung eines besseren Verfahrens unternommen wurden, zeigten, dass die Phenylamidopropionsäure durch salpetersaures Quecksilberoxyd fällbar ist. Da reines Leucin mit letzterem Reagens keinen Niederschlag gibt, so schien darin ein Mittel zur Trennung der beiden Amidosäuren gefunden zu sein. Es zeigte sich aber, dass die Ausfällung der Phenylamidopropionsäure durch das Vorhandensein von Leucin erschwert wird. In einer Lösung, welche neben der ersteren Amidosäure viel Leucin enthält, bringt salpetersaures Quecksilberoxyd zunächst gar keinen Niederschlag hervor; erst nach Verlauf einiger Zeit beginnt ein solcher sich langsam auszuscheiden. Es war daher zu erwarten, dass man die Phenylamidopropionsäure durch Ausfällen mit dem genannten Reagens nur würde gewinnen können, wenn man den Niederschlag erst nach längerem Stehen abfiltrit, und dass die Ausscheidung unter Umständen eine unvollständige sein werde.

Um dieses Verfahren auf seine Brauchbarkeit zu prüfen, verwendeten wir — da uns kein anderes Material zur Verfügung stand — die bei Verarbeitung der dritten Portion des Rohleucins auf Phenylamidopropionsäure übrig gebliebenen Substanzen, welche neben Leucin noch etwas Phenylamidopropionsäure enthalten mussten. Wir lösten dieselben in Wasser, fügten der Lösung salpetersaures Quecksilberoxyd zu, filtrirten den dadurch hervorgebrachten Niederschlag nach mehrtägigem Stehen ab und zersetzten ihn durch Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit wurde nach Zusatz von etwas Ammoniak im Wasserbade zur Trockene verdunstet, der Rückstand mit kaltem

Alkohol extrahirt. Das ungelöst Gebliebene schien Phenylamidopropionsäure, daneben aber auch Leucin zu enthalten und war ohne Zweifel ein Gemenge verschiedener Substanzen. Wir lösten es in Wasser, sättigten die Lösung in der Wärme mit Kupferoxydhydrat. Es schied sich eine Kupferverbindung ab, welche abfiltrirt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt wurde; der vom Schwefelkupfer abfiltrirten Lösung fügten wir Kupferacetat zu, filtrirten den so erhaltenen Niederschlag wieder ab, zersetzten ihn durch Schwefelwasserstoff und führten die so erhaltene Amidosäure schliesslich zur Reinigung noch mehrmals in das Kupfersalz über. Die daraus wieder abgeschiedene Amidosäure, welche in kleinen Blättchen krystallisirte und beim Erhitzen im Proberohr das weiter unten geschilderte Verhalten der Phenylamidopropionsäure zeigte, wurde zu einer Elementaranalyse verwendet; es wurde ein Gehalt von 63,40% C und 7,52% H gefunden[1]). Dies entspricht der Annahme, dass die analysirte Substanz ein Gemenge von 80 Theilen Phenylamidopropionsäure und 20 Theilen Leucin war[2]).

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen darf man wohl schliessen, dass es leicht ist, nach dem angegebenen Verfahren (durch Ausfällung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd u. s. w.) aus dem Rohleucin Präparate zu gewinnen, welche reich an Phenylamidopropionsäure sind; zur Trennung dieser Säure von den anderen in den Quecksilberniederschlag eingegangenen Amidosäuren[3]) müsste dann wohl wieder die fraktionirte Fällung mit Kupferacetat angewendet werden. Es dürfte sich vielleicht empfehlen, die durch Ueberführung in das Kupfersalz schon gereinigte Säure zur Trennung vom Leucin schliesslich noch einmal durch salpetersaures Queck-

---

1) 0,1886 gr. Substanz gaben 0,4384 gr. CO^2 und 0,1277 gr. H^2O. Die Substanz enthielt eine geringe Aschenmenge (0,8%), welche in Abzug gebracht worden ist.

2) Ein solches Gemenge enthält 63,3% C und 7,3% H.

3) In den Quecksilberniederschlag müssen u. A. auch die geringen (der Abscheidung entgangenen) Mengen von Asparaginsäure und Glutaminsäure eingehen, welche sich in dem in Arbeit genommenen Material etwa noch vorfinden, sowie auch Reste des Tyrosins.

silberoxyd auszufällen (da anzunehmen ist, dass in diesem Falle das Leucin entweder gar nicht oder doch nur in sehr geringem Betrage in den Niederschlag eingehen wird). Vermuthlich lässt sich für die Gewinnung der Säure die von uns später gemachte Beobachtung verwerthen, dass beim Zutröpfeln von Natriumcarbonat zu einer mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzten Lösung, welche Phenylamidopropionsäure und Leucin nebeneinander enthält, anfangs vorzugsweise die Quecksilberverbindung der ersteren Amidosäure niederfällt. Wir behalten uns vor, in dieser Richtung noch weitere Versuche anzustellen.

Nach dieser Abschweifung kehren wir zurück zur Mittheilung der Resultate, welche wir bei der näheren Untersuchung der nach der früher beschriebenen Methode (durch fraktionirte Fällung mittelst Kupferacetat) aus dem Rohleucins abgeschiedenen für Phenylamidopropionsäure zu erklärenden Substanz erhielten. Sie krystallisirte ebenso wie die aus Lupinenkeimlingen gewonnene Phenylamidopropionsäure, aus concentrirten, noch warmen wässerigen Lösungen in kleinen, glänzenden Blättchen, welche kein Krystallwasser enthielten; bei der Ausscheidung aus verdünnter Lösung bildeten sich feine, mattweisse, büschelförmig vereinigte Nadeln. Die Krystalle lösten sich ziemlich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser, wenig im Weingeiste. Die Lösung gab mit Millon'schem Reagens keine Färbung. Für die Analyse benutzten wir zwei verschiedene Präparate, welche aus zwei nacheinander erhaltenen Fraktionen des Kupferniederschlags abgeschieden worden waren. Dabei wurden folgende Zahlen erhalten:

1. 0,2049 gr. Substanz gaben 0,4894 gr. CO_2 und 0,1315 gr. H_2O.
2. 0,2056 gr. Substanz gaben 0,4895 gr. CO_2 und 0,1315 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_9H_{11}NO_2$	Gefunden: 1.	2.
C	65,45%	65,15%	64,93%
H	6,67 «	7,13 «	7,11 «
N	8,45 «	—	—
O	19,45 «	—	—
	100,00%		

Wie man sieht, differiren die bei der Analyse der beiden Präparate gefundenen Zahlen unter sich nur wenig und liegen den der Formel $C^9H^{11}NO^2$ entsprechenden Werthen sehr nahe. Da der Kohlenstoff etwas zu niedrig, der Wasserstoff etwas zu hoch gefunden wurde, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die analysirten Präparate noch eine ganz geringe Leucinmenge enthielten.

Wurde der heissen, wässerigen Lösung der Amidosäure eine Kupferacetatsolution zugefügt, so schied sich sofort in blassblauen Krystallschuppen eine im Aussehen mit dem Kupfersalz der Phenylamidopropionsäure übereinstimmende Kupferverbindung aus. Dieselbe enthielt ebenso wie das erstere kein Krystallwasser. Die Kupferbestimmung führten wir, um die in der Verbindung vorhandene Amidosäure wieder gewinnen zu können, in folgender Weise aus: Das Kupfersalz wurde in Wasser aufgerührt und mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt[1]), das Schwefelkupfer abfiltrirt, nach dem Trocknen unter Hinzufügung der Filterasche mittelst Salpetersäure oxydirt, das Kupfer sodann durch Natronlauge ausgefällt und in der gewöhnlichen Weise bestimmt. Wir erhielten folgende Zahlen:

1. 0,757 gr. Substanz (über Schwefels. getrocknet) gaben 0,1515 gr. CuO
2. 0,577 gr. Substanz id. gaben 0,1145 gr. CuO

	Berechnet für $2(C^9H^{10}NO_2)Cu$	Gefunden: 1.	2.
Cu	16,2%	15,9%	15,8%

Ein anderes Präparat des Kupfersalzes wurde für eine C- und H-Bestimmung verwendet. Dabei wurden folgende Zahlen erhalten: 0,2150 gr. Substanz gaben 0,4305 gr. CO^2 und 0,1080 gr. H^2O.

	Berechnet für $2(C^9H^{10}NO^2)Cu$	Gefunden:
C	55,18%	54,60%
H	5,11 «	5,58 «

---

1) Wenn man das Kupfersalz der Amidosäure in Wasser aufrührt und Schwefelwasserstoff einleitet, so erhält man eine braune Flüssigkeit, aus welcher sich das Schwefelkupfer nicht abfiltriren lässt; erst beim Eindampfen der Flüssigkeit (schneller nach dem Zusatz von etwas Essigsäure) scheidet sich das Schwefelkupfer ab. Die Kupfersalze anderer Amidosäuren verhalten sich ebenso.

Vielleicht schloss dieses Präparat noch etwas Leucinkupfer ein[1]).

Bei Untersuchung der aus Lupinenkeimlingen abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure fanden wir, dass dieselbe bei der trockenen Destillation ein charakteristisches Verhalten zeigt. Erhitzt man eine kleine Menge in einem Proberohr, so zerfällt sie, während ein geringer Theil unzersetzt sublimirt, unter Abspaltung von Wasser und Kohlensäure in einen gelben geschmolzenen, beim Erkalten krystallinisch erstarrenden Rückstand und einem flüchtigen Körper, welcher sich im oberen Theil des Röhrchens in farblosen Tropfen absetzt; letztere werden nach dem Erkalten krystallinisch und besitzen einen eigenthümlichen, nicht unangenehmen Geruch[2]). Erhitzt man eine grössere Menge in einem kleinen Retörtchen, so schmilzt die Masse unter lebhaftem Aufschäumen und Entwickelung weisser Dämpfe zu einer gelbbraunen Flüssigkeit, welche nach dem Erkalten krystallinisch erstarrt; das in die Vorlage übergegangene flüchtige Produkt wird nach dem Erkalten zu einer halbfesten Masse. Die letztere löst sich in Salzsäure unter Kohlensäureentwickelung (unter Hinterlassung eines geringen Rückstandes); fügt man zur Lösung Platinchlorid, so scheidet sich ein hellgelber Niederschlag aus, welcher das Platindoppelsalz einer Base $C_8H_{11}N$ ist; wahrscheinlich ist diese Base identisch mit Phenyläthylamin[3]). Das Platindoppelsalz löst sich wenig in Weingeist, ziemlich leicht in kochendem Wasser; beim Erkalten scheiden sich aus dieser Lösung orange-gelbe glänzende Krystallblättchen aus. Der beim Erhitzen der Amido-

---

[1]) Leucinkupfer enthält 42,17 % C und 7,61 % H (Gmelin: Chemie, Supplementband, S. 1246). Ein Gemenge von 97 Theilen phenylamidopropionsaurem Kupfer und 3 Theilen Leucinkupfer würde 54,6 % C und 5,2 % H enthalten.

[2]) Derselbe tritt jedoch erst nach dem Erkalten deutlich hervor (während der Verflüchtigung riecht das betreffende Produkt mehr ammoniakalisch).

[3]) Erlenmeyer und Lipp haben nachgewiesen, dass die von ihnen synthetisch dargestellte Phenyl-α-Amidopropionsäure bei der trockenen Destillation Phenyläthylamin liefert.

säure hinterbleibende, krystallinisch erstarrende Rückstand schliesst einen Körper ein, welcher als Phenyllactimid (= C_9H_9NO) zu bezeichnen ist; derselbe löst sich in kochendem Weingeist und krystallisirt daraus beim Erkalten in feinen Nadeln.

Die gleichen Produkte lieferte die in oben beschriebener Weise aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen gewonnene Amidosäure. Beim Erhitzen im Proberohr zeigte sie das gleiche Verhalten, wie es oben für die Phenylamidopropionsäure aus Lupinenkeimlingen beschrieben worden ist. Um etwas grössere Mengen der Zersetzungsprodukte zu erhalten, benutzten wir, da unser Vorrath an reiner Substanz nur gering war, hauptsächlich Präparate, welche noch mit etwas Leucin gemengt waren; das Vorhandensein dieses Körpers erschwerte jedoch die Gewinnung der oben beschriebenen Produkte nur wenig[1]). Der in die Vorlage übergegangene flüchtige Körper löste sich in verdünnter Salzsäure unter Kohlensäureentwickelung (unter Hinterlassung eines geringen Rückstandes); aus der Lösung schied sich auf Zusatz von Platinchlorid ein Platindoppelsalz aus, welches mehrmals aus Wasser umkrystallisirt wurde; dasselbe stimmte sowohl in seinem Verhalten gegen Lösungsmittel als auch in seinem Aussehen mit dem aus der früher untersuchten Phenylamidopropionsäure gewonnenen überein. Die Analyse gab folgende Zahlen:

1. 0,2207 gr. Substanz (zuerst über Schwefelsäure, dann kurze Zeit im Luftbade getrocknet) gaben 0,2405 gr. CO_2 und 0,0815 gr. H_2O.
2. 0.2250 gr. Substanz gaben beim Glühen 0,0672 gr. Platin.
3. 0,1382 gr. Substanz gaben beim Glühen 0,0410 gr. Platin.

	Berechnet für	Gefunden:		
	$2(C^8H^{11}N, HCl)PtCl_4$	1.	2.	3.
C	29,47%	29,68%	—	—
H	3,68 «	4,10 «	—	—
N	4,30 «	—	—	—
Pt	29,86 « [2])	—	29,87%	29,67%
Cl	32,69 «	—	—	—
	100,00%			

[1]) Im mittleren Theile des Retörtchens setzte sich ein leucinhaltiges Sublimat an. [2]) Pt = 194,5.

Das salzsaure Salz der Base, erhalten durch Zerlegung des Platindoppelsalzes vermittelst Schwefelwasserstoff, krystallisirte in Blättern. Der beim Erhitzen der Amidosäure hinterbliebene Rückstand löste sich in kochendem Weingeist; aus der Lösung schieden sich beim Erkalten feine Nadeln aus, welche nach dem Abfiltriren und Trocknen eine weisse verfilzte Masse bildeten[1]). Sie schmolzen bei ca. 280° und sublimirten bei starker Steigerung der Temperatur[2]). Sie lösten sich nicht oder doch nur wenig in Wasser, Kalilauge, verdünnter Salzsäure, und verdünnter Schwefelsäure, leicht in heissem Eisessig und in kochender concentrirter Salpetersäure (die Lösung lieferte beim Erkalten eine Ausscheidung von feinen Nadeln). Genau das gleiche Verhalten zeigte das aus der Phenylamidopropionsäure (aus Lupinenkeimlingen) dargestellte Phenyllactimid.

Als die Amidosäure mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure erhitzt wurde, trat der Geruch des Benzaldehyds auf; nach dem Erkalten krystallisirte aus der Flüssigkeit ein Körper aus, welcher im Aussehen und Verhalten mit Benzoesäure übereinstimmte (der Schmelzpunkt der durch Umkrystallisiren gereinigten Substanz lag bei 120,5°).

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse berechtigen zu der Schlussfolgerung, dass die aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen in der beschriebenen Weise dargestellte Amidosäure identisch mit der aus Lupinenkeimlingen abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure ist.

Für letzteren Körper haben wir in einer früheren Abhandlung[3]) Identität mit der von E. Erlenmeyer und A. Lipp[4]) synthetisch dargestellten Phenyl-α-Amidopropionsäure (Phenylalanin) für sehr wahrscheinlich erklärt; die gleiche Anschauung haben die eben genannten Forscher ausgesprochen[5]). Diese Ansicht basirt hauptsächlich

---

[1]) In Lösung bleibt eine braune leicht lösliche Substanz.

[2]) Bei raschem Erhitzen trat Styrolgeruch auf.

[3]) Journal für praktische Chemie [2], Bd. 27, S. 348.

[4]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 15, S. 1006; ausführlicher in Annalen der Chemie, Bd. 219, S. 194.

[5]) A. a. O., S. 197, Anmerkung.

auf der Wahrnehmung, dass beide Amidosäuren bei der trockenen Destillation die gleichen Zersetzungsprodukte (Kohlensäure, Phenyllactimid und eine Base $C^8H^{11}N$ geben[1]). Doch stimmen die beiden Körper in ihren Eigenschaften nicht vollständig überein; die Verschiedenheiten, welche wir nach dem Erscheinen der ausführlichen Abhandlung über das Phenylalanin genauer angeben können, als es uns früher möglich war, bestehen in Folgendem: Unsere Amidosäure krystallisirt aus concentrirten, noch warmen wässerigen Lösungen in glänzenden Blättchen, aus verdünnten Lösungen mit Krystallwasser in feinen weissen Nadeln, das Phenylalanin dagegen aus heissem Wasser beim Erkalten in kurzen sternförmig verwachsenen Prismen, aus wässerigem Alkohol in glänzenden Blättchen. Beim Erhitzen im Capillarröhrchen zersetzt sich nach nach den von Erlenmeyer und Lipp ausgeführten Versuchen das Phenylalanin bei 263—265°, unsere Amidosäure bei 275—280°. Das Kupfersalz unserer Amidosäure ist wasserfrei, während die Kupferverbindung

---

1) Zu der gleichen Schlussfolgerung führt jedoch auch die folgende Betrachtung: Nach der Theorie kann es vier Phenylamidopropionsäuren (darunter zwei Amidohydrozimmtsäuren und zwei Amidohydratropasäuren) geben, deren Constitution man durch folgende Formeln ausdrücken kann:

1. $C_6H_5 - CH_2 - CH(NH_2) - COOH$ 2. $C_6H_5 - CH(NH_2) - CH_2 - COOH$

3. $C_6H_5 - C(CH_3)(COOH) - NH_2$ 4. $C_6H_5 - CH(COOH) - CH_2 - NH_2$

Nun sind vier solche Säuren synthetisch dargestellt worden, nämlich die Amidohydrozimmtsäure von E. Posen (Annalen der Chemie, Bd. 195, S. 143) die Amidohydratropasäure von Fittig und Wurster (ebendaselbst, S. 158) die α-Amidohydratropasäure von F. Tiemann und K. Köhler (Berliner Berichte, Bd. 14, S. 1981) und die Phenyl-α-Amidopropionsäure von E. Erlenmeyer und A. Lipp. Nur die letztere gleicht unserer Amidosäure; die drei zuerst genannten Körper differiren in ihren Eigenschaften so sehr von derselben, dass sie mit Sicherheit für verschieden erklärt werden können.

des Phenylalanins zwei Moleküle Krystallwasser enthält (welche jedoch schon beim Trocknen über Schwefelsäure entweichen).

Eine Erklärung für diese Verschiedenheiten, welche freilich kaum als schwerwiegende bezeichnet werden können[1]), liefert vielleicht die von uns gemachte Beobachtung, dass unsere Amidosäure optisch wirksam ist (während wir für die synthetisch dargestellte Phenyl-α-Amidopropionsäure wohl optische Unwirksamkeit annehmen dürfen, wenn auch von Erlenmeyer und Lipp keine Angaben darüber gemacht worden sind). Die betreffenden Versuche, für welche ein Soleil-Ventzke'scher Polarisationsapparat verwendet wurde, lieferten folgende Resultate[2]):

1. Eine wässerige Lösung, welche in 100 cbcm. 2,0 gr. Substanz enthielt, drehte im 200 mm. langen Rohr bei 16° C. 4,0° nach links.
2. Eine in 100 cbcm. 2,4 gr. Substanz enthaltende Lösung drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 5,0° nach links.

Daraus berechnet sich $\alpha_D = -35,3$. Die Genauigkeit dieser Bestimmungen wird ohne Zweifel dadurch beeinträchtigt, dass die für die Versuche verwendeten Lösungen eine relativ geringe Substanzmenge enthielten; concentrirtere Lösungen liessen sich aber wegen der Schwerlöslichkeit der Säure mit Wasser allein nicht bereiten. Als wir solche Lösungen mit Hülfe von Ammoniakflüssigkeit herstellten und im Polari-

---

1) Man hat schon öfter die Beobachtung gemacht, dass aus den Organismen ausgeschiedene chemische Verbindungen mit den künstlich dargestellten Verbindungen gleicher Art in Bezug auf manche Eigenschaften nicht ganz übereinstimmen; zur Erklärung dieser Erscheinung nimmt man in der Regel an, dass dem ersteren geringe, durch Umkrysallisiren u. s. w. nicht zu entfernende Unreinigkeiten anhaften. Dass auch in vorliegendem Falle derartige Einflüsse geltend gemacht haben können, ist zuzugeben; es ist möglich, dass unsere, aus einem Gemenge von Amidosäuren u. s. w. abgeschiedene Phenylamidopropionsäure weniger rein war, als die synthetisch dargestellte Säure.

2) Für die obigen Versuche wurde ein aus Lupinenkeimlingen gewonnenen Präparat von Phenylamidopropionsäure verwendet. Ein Versuch mit der aus den Zersetzungsprodukten des Kürbisglobulins abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure liefert ein nur sehr wenig abweichendes Resultat. Wir führen dasselbe nicht mit auf, weil das betreffende Präparat wahrscheinlich nicht völlig frei von Leucin war.

sationsapparat untersuchten, zeigte sich, dass dieselben schwächer drehten als die Lösungen in reinem Wasser und dass mit steigendem Ammoniakgehalt das Drehungsvermögen sich verringerte. So drehte z. B. eine mit wenig Ammoniak hergestellte Lösung, welche in 20 cbcm. 0,865 gr. Phenylamidopropionsäure enthielt, $5\frac{1}{2}^{0}$ nach links, eine weit mehr Ammoniak enthaltende Lösung von 1,2 gr. Substanz in 20 cbcm. nur $3{,}4^{0}$ nach links. Als aus der letzteren Lösung durch Eindampfen das Ammoniak ausgetrieben, der Rückstand in reinem Wasser gelöst, die Lösung auf 50 cbcm. verdünnt und dann untersucht wurde, so zeigte sich, dass dieselbe 5^{0} nach links drehte; es war demnach durch Entfernung des Ammoniaks das Drehungsvermögen fast auf das vierfache gesteigert worden. Eine Auflösung der Phenylamidopropionsäure in Salzsäure zeigte, wie schon in einer früheren Abhandlung[1]) mitgetheilt worden ist, gar kein Drehungsvermögen.

Unsere Amidosäure ist demnach als eine optisch wirksame Modifikation der Phenyl-α-Amidopropionsäure anzusehen, welche auch in den übrigen Eigenschaften einige Verschiedenheiten von der synthetisch dargestellten Säure zeigt[2]).

Da das Tyrosin nach den schönen Untersuchungen von Erlenmeyer und Lipp als Hydroxyphenyl-α-Amidopropionsäure anzusehen ist, so könnte man vielleicht die Frage aufwerfen, ob die unter den Zersetzungsprodukten des Kürbisglobulins von uns aufgefundene Phenylamidopropionsäure während der Zersetzung jener Eiweisssubstanz durch Salzsäure aus dem Tyrosin durch Reduktion sich gebildet haben könne. Man wird gewiss geneigt sein, diese Frage von vorn-

---

[1]) Journal für praktische Chemie [2], Bd. 27, S. 343.

[2]) Man könnte annehmen, dass unsere Amidosäure mit der synthetisch dargestellten Phenyl-α-Amidopropionsäure zwar structur-identisch aber im Sinne der Le Bel- und vant'Hoff'schen Hypothese von ihr verschieden sei, falls man letzterer Hypothese zustimmt.

Es ist hier noch auf eine Verschiedenheit aufmerksam zu machen, welche bei den aus den beiden Amidosäuren dargestellten Zersetzungsprodukten sich findet. Das von Erlenmeyer und Lipp untersuchte Phenyllactimid schmolz bei 290—291°, das aus unserer Amidosäure dargestellte Phenyllactimid (nach wiederholtem Umkrystallisiren) bei ca. 280°.

herein in negativem Sinne zu beantworten; denn es sind unseres Wissens keine Beispiele dafür bekannt, dass durch Erhitzen mit Salzsäure und Zinnchlorür derartige Reduktionen sich bewerkstelligen lassen. Da aber nach H. und E. Salkowski[1]) bei der Fäulniss des Tyrosins Hydrozimmtsäure sich bildet und demnach anzunehmen ist, dass unter Einwirkung der Fäulnissfermente (wahrscheinlich durch nascirenden Wasserstoff) die im Tyrosin am Benzolkern befindliche Hydroxyl-Gruppe reducirt werden kann, so haben wir es doch für angezeigt gehalten, die obige Frage einer experimentellen Prüfung zu unterwerfen. Ein Quantum von 7,9 gr. Tyrosin (dargestellt aus dem Kürbisglobulin) wurde mit einem grossen Ueberschuss von Salzsäure und Zinnchlorür circa 100 Stunden lang am Rückflusskühler erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit mit Wasser verdünnt, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Zinn befreit, hierauf eingedunstet; den Rückstand lösten wir in Wasser, und neutralisirten die Flüssigkeit mit Ammoniak. Es erfolgte eine reichliche Ausscheidung von Tyrosin, welches abfiltrirt und mit viel kaltem Wasser gewaschen wurde. Aus der Mutterlauge liess sich durch Eindunsten noch eine geringe Menge des gleichen Körpers gewinnen Im Ganzen wurden so 6,9 gr. Tyrosin (= 87 % der für den Versuch verwendeten Menge) wieder erhalten. Die vom Tyrosin abfiltrirte Flüssigkeit wurde mit etwas Schwefelsäure versetzt und sodann mittelst feuchten Silberoxyds von der Salzsäure befreit. Das Filtrat vom Chlorsilber behandelten wir zunächst mit Schwefelwasserstoff, schafften sodann die Schwefelsäure durch Zusatz von Barythydrat fort und dunsteten die Flüssigkeit ein. Es blieb ein der Menge nach nicht beträchtlicher Rückstand, welcher noch etwas Tyrosin einschloss; eine der Phenylamidopropionsäure gleichende Substanz vermochten wir darin nicht aufzufinden. Nach dem Abfiltriren des Tyrosins gab die Flüssigkeit mit Kupferacetat nur schwache Blaufärbung.

Es ist demnach sehr unwahrscheinlich, dass die unter den Produkten der Eiweisszersetzung von uns vorgefundene

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 452.

Phenylamidopropionsäure sich aus dem Tyrosin gebildet hat; man wird vielmehr anzunehmen haben, dass sie aus einer im Eiweissmolekül vorhandenen Atomgruppe direkt hervorgegangen ist. Eine Stütze für diese Annahme bildet auch die Thatsache, dass man bei Oxydation der Eiweissstoffe durch Erhitzen mit Braunstein und verdünnter Schwefelsäure oder durch Chromsäuregemisch Benzoesäure erhält[1]); dass diese Benzoesäure ein Oxydationsprodukt der bei Einwirkung der Säuren auf die Eiweissstoffe entstandenen Phenylamidopropionsäure ist, darf wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden.

Die Ausbeute an Phenylamidopropionsäure, welche wir bei Verarbeitung des Kürbisglobulins erhielten, war nur sehr gering. Da aber die Scheidung der genannten Säure von den übrigen Produkten auf dem von uns eingeschlagenen Wege mit grossem Substanzverlust verbunden ist, so lässt sich aus der Ausbeute kaum ein Schluss auf die im Ganzen vorhanden gewesene Quantität jenes Körpers machen.

Bei der Zersetzung des Kürbisglobulins hatten wir eine beträchtliche Quantität von Rohleucin gewonnen. Es schien uns von Interesse zu versuchen, ob darin ausser Leucin und ausser Phenylamidopropionsäure auch noch Homologe des Leucins nachzuweisen waren.

Wir stellten daher aus dem Rohleucin drei Präparate in folgender Weise dar: Die beiden ersten Portionen des Rohleucins wurden 2mal aus verdünntem ammoniakhaltigem Weingeist auskrystallisirt. Die so erhaltene blätterige Krystallmasse lösten wir in heissem Wasser und sättigten die Lösung unvollständig mit Kupferoxydhydrat. Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, ausgewaschen und

---

[1]) Nach den Untersuchungen von Guckelberger: Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 64, S. 39. Auch bei der Oxydation von Eiweissstoffen durch übermangansaures Kalium und verdünnte Schwefelsäure tritt nach Städeler (Journal für praktische Chemie, Bd. 72, S. 251, sowie nach Tappeiner und nach Pott (mitgetheilt in Ritthausen's «die Eiweisskörper der Getreidearten u. s. w.» S. 225) Benzoesäure auf.

sodann durch Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Das Filtrat vom Schwefelkupfer verdunsteten wir zur Krystallisation; das so gewonnene Produkt wurde dann noch aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt. So erhielten wir ein schönes, aus weissen atlasglänzenden Krystallblättern bestehendes Präparat[1]), welches vollkommen das Verhalten des Leucins zeigte[2]). Einige nach Kjeldahl's Methode ausgeführte Stickstoffbestimmungen gaben folgende Resultate:

1. 0,2146 gr. Substanz gaben 0,022788 gr. N (= 5,65 cbcm. Barytwasser a).
2. 0,3096 gr. Substanz gaben 0,032945 gr. N (= 8,4 cbcm. Barytwasser b).

---

1) Es könnte scheinen, als ob der zur Darstellung eines reinen Leucinpräparates von uns eingeschlagene Weg demjenigen ähnlich wäre, auf welchem wir zur Gewinnung von Phenylamidopropionsäure gelangten. Bei genauerer Prüfung zeigen sich aber bedeutende Unterschiede. Die Phenylamidopropionsäure erhielten wir aus der dritten, die meisten Beimengungen einschliessenden Portion des Rohleucins; diese Portion wurde zunächst unter möglichster Vermeidung von Verlusten (also unter Aufarbeitung der Mutterlaugen) einmal aus Wasser umkrystallisirt, die Lösung sodann mit Kupferoxydhydrat behandelt, das aus dem Kupferniederschlag erhaltene, neben Leucin viel Phenylamidopropionsäure einschliessende Substanzgemenge in der früher beschriebenen Weise für die fraktionirte Fällung mit Kupferacetat verwendet. Bei Darstellung von reinem Leucin dagegen gingen wir aus von den beiden ersten Portionen des Rohleucins, welche jedenfalls nur wenig Phenylamidopropionsäure einschlossen (nur die eine dieser Portionen gab bei der Oxydation etwas Benzoesäure). Dieselben wurden unter Entfernung der Mutterlaugen zweimal aus ammoniakhaltigem Weingeist umkrystallisirt; dadurch wurde ohne Zweifel das Leucin von einem grossen Theil der ihm anhaftenden Unreinigkeit befreit. Aus der so erhaltenen Krystallmasse, welche wohl schon an und für sich ein ziemlich reines Leucin war, wurde dann in der oben beschriebenen Weise die Kupferverbindung dargestellt.

2) Wenn wir hier oder später für eine Substanz angeben, dass dieselbe im Verhalten mit Leucin übereinstimmt, so verstehen wir darunter folgendes: Die Substanz verflüchtigt sich beim Erhitzen im Proberohr ohne zu schmelzen, und liefert ein weisses, wolliges Sublimat. Sie wird von Wasser schwer benetzt und löst sich ziemlich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser. Setzt man der heissen, wässerigen Lösung Kupferacetat zu, so scheidet sich eine schuppig-krystallinische Kupferverbindung aus; das Gleiche ist der Fall, wenn man in die Lösung Kupferoxydhydrat einträgt.

	Berechnet für $C^6O^{13}NO^2$	Gefunden: 1.	2.
N	10,69%	10,61%	10,64%

Ein zweites Präparat gewannen wir aus der Flüssigkeit, welche von der oben erwähnten Kupferverbindung abfiltrirt war. In dieselbe wurde noch soviel Kupferoxydhydrat eingetragen, dass sie vollständig damit gesättigt war. Dann wurde sie im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand mit warmen Wasser behandelt. Es blieb eine beträchtliche Quantität einer Kupferverbindung zurück. Dieselbe wurde durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die daraus erhaltene Amidosäure, welche gleichfalls das Aussehen des Leucins zeigte, für eine Stickstoffbestimmung verwendet:

0,2188 gr. Substanz gaben 0,022989 gr. N (= 5,8 cbcm. Barytwasser a).

	Berechnet für $C^6H^{13}NO^2$	Gefunden:
N	10,69%	10,51%

Obwohl dieses Präparat im Stickstoffgehalt von Leucin nur wenig abwich, so konnte es doch nicht für reines Leucin erklärt werden. Beim Erhitzen im Proberohr sublimirte es nicht vollständig, sondern liess einen Rückstand. Es löste sich leichter in Wasser, als das zuerst beschriebene Präparat; von diesem bedurfte 1 Theil im Mittel 37 Theile Wasser von Zimmertemperatur zur Auflösung; von jenem dagegen löste sich 1 Theil in 26 Theilen Wasser.

Die bei Darstellung dieser beiden Präparate übrig gebliebenen Mutterlaugen lieferten beim Eindunsten einen Rückstand, aus welchem bei der Oxydation durch Kaliumbichromat und verdünnte Schwefelsäure Benzoesäure erhalten wurde. Man darf dies wohl als einen Beweis dafür ansehen, dass jener Rückstand Phenylamidopropionsäure einschloss. Letztere war bei Gewinnung der Leucinpräparate also in die Mutterlauge übergegangen.

Die blaue Lösung, welche von der zur Darstellung des zweiten Präparates verwendeten Kupferverbindung abgelaufen war, wurde mit einer in entsprechender Weise bei Verarbeitung der dritten Portion des Rohleucins auf Phenylamidopropionsäure (m. vgl. w. o.) erhaltenen blauen Flüssigkeit

vereinigt, dann im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand mit warmem Wasser behandelt. Es blieb nur wenig Substanz ungelöst. In die filtrirte blaue Lösung, welche den am leichtesten löslichen Antheil der aus dem Rohleucin erhaltenen Kupferverbindungen einschloss[1]) leiteten wir Schwefelwasserstoff ein, brachten das Filtrat vom Schwefelkupfer zur Krystallisation und reinigten das so erhaltene, anfangs nur undeutlich krystallinische Produkt durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus verdünntem Weingeist; es verwandelte sich dabei in glänzende Blättchen vom Aussehen und Verhalten des Leucins. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0,3192 gr. Substanz gaben 0,03398 gr. N (= 8,5 cbcm. Barytwasser a).
2. 0,3045 gr. Substanz gaben 0,032553 gr. N (= 8,3 cbcm. Barytwasser b).

	Berechnet für $C^6H^{13}NO^2$	Gefunden: 1.	2.
N	10,69%	10,64%	10,68%

Bei allen in der beschriebenen Weise dargestellten drei Präparaten lag, wie man sieht, der gefundene Stickstoffgehalt demjenigen des Leucins sehr nahe[2]). Man hat daher keinen Grund anzunehmen, dass in diesen Präparaten dem Leucin Homologe beigemengt waren.

Ob man aber dieses Ergebniss als einen Beweis dafür ansehen kann, dass unter den bei Zersetzung des Kürbisglobulins erhaltenen Produkten Homologe des Leucins völlig

---

[1]) In den Lupinenkeimlingen ist nach der vom Verfasser und J. Barbieri ausgeführten Untersuchung eine Amidovaleriansäure vorhanden, welche sich vom Leucin dadurch unterscheidet, dass ihre Kupferverbindung viel leichter löslich ist. Wir mussten daher bei dem Bestreben im vorliegenden Falle Homologe des Leucins aufzufinden, unser Augenmerk insbesondere auch auf den am leichtesten löslichen Theil der in der oben beschriebenen Weise erhaltenen Kupferverbindungen richten.

[2]) Die nächsten Homologen des Leucins unterscheiden sich im Stickstoffgehalt so beträchtlich von letzteren, dass eine nur einigermassen beträchtliche Beimengung solcher Körper durch die Stickstoffbestimmung leicht nachgewiesen werden könnte.

fehlten, ist noch fraglich. Vergleicht man die Quantität der reinen, für die Analysen verwendeten Präparate mit dem Quantum des Rohprodukts, aus welchem jene Präparate erhalten wurden, so zeigt sich eine sehr grosse Differenz; demnach finden bei der Reinigung und beim Umkrystallisiren der einzelnen Präparate grosse Substanzverluste statt. Es ist nun sehr wohl denkbar, dass im vorliegenden Fall Homologe des Leucins in geringer Menge vorhanden waren, aber der Beobachtung entgingen, weil sie beim Umkrystallisiren der Rohprodukte nach und nach so vollständig in die Mutterlaugen übergingen, dass schliesslich nur Leucin übrig blieb.

Wenn man alle Portionen des Rohleucins vereinigte und sodann wiederholt umkrystallisirte, so würde ohne Zweifel schliesslich auch die Phenylamidopropionsäure so vollständig in die Mutterlauge übergehen, dass ein reines Leucinpräparat resultirte (dass solches bei Verarbeitung der beiden ersten Portionen des Rohleucins der Fall war, ist früher schon gezeigt worden).

Man könnte nun denken, dass obige Frage sich entscheiden liesse, indem man das Rohprodukt unter möglichster Vermeidung von Verlusten nur ein- oder zweimal umkrystallisirt und dann der Elementaranalyse unterwirft. Hätte man es mit einem Gemenge zu thun, welches neben geringen (der Abscheidung entgangenen) Quantitäten von Tyrosin, Asparaginsäure und Glutaminsäure nur Leucin und Homologe desselben enthielt, so würde diese Methode wohl zum Ziele führen; da aber im Rohprodukt auch die Phenylamidopropionsäure (und zwar ihrer ganzen Menge nach) enthalten ist, so kann jenes Verfahren kaum ein sicheres Resultat geben.

Dass es gelingen könnte, die Gemengtheile des Rohleucins durch fraktionirte Krystallisation aus Wasser oder aus verdünntem Weingeist von einander zu trennen, halten wir für sehr unwahrscheinlich.

II. Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure.

Die Produkte, welche das Conglutin bei der Zersetzung durch eine Säure liefert, sind früher schon von Ritthausen[1]) untersucht worden. Beim Erhitzen des genannten Eiweissstoffs mit verdünnter Schwefelsäure (1 Theil conc. Säure und 2 Theile Wasser) erhielt derselbe Tyrosin, Leucin, Asparagin- und Glutaminsäure.

Wir führten die Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure unter Zinnchlorürzusatz nach den von Hlasiwetz und Habermann gegebenen Vorschriften, also in der gleichen Weise wie beim Kürbiseiweiss, aus. Auch verfuhren wir bei der Abscheidung von Tyrosin, Leucin und Asparaginsäure aus der Zersetzungsflüssigkeit ebenso, wie dort angegeben worden ist. Die Glutaminsäure dagegen liessen wir in den ersten Versuchen vor Entfernung der Salzsäure aus der Zersetzungsflüssigkeit als Salzsäure-Verbindung auskrystallisiren (eine Gewinnungsmethode, welche bekanntlich zuerst von Hlasiwetz und Habermann angewendet wurde). Wenn man nämlich die mittelst Schwefelwasserstoff vom Zinn befreite Flüssigkeit bis zum Erscheinen eines Krystallhäutchens auf der Oberfläche eindampft und dann erkalten lässt, so erfolgt nach einiger Zeit eine reichliche krystallinische Ausscheidung. Man kann dieselbe von dem flüssig gebliebenen Theile des Syrnps trennen, indem man die mit etwas concentrirter Salzsäure verdünnte Masse auf ein aus wollenem Zeug hergestelltes Filter bringt, und die Mutterlauge durch Absaugen mittelst der Wasserluftpumpe und darauf folgendes Abpressen zwischen Fliesspapier entfernt; zersetzt man die so gewonnene Krystallmasse (am besten nach dem Umkrystallisiren derselben aus Wasser) mittelst Silberoxyds, so erhält man Glutaminsäure. Zur Reinigung kann man dieselbe in das durch Weingeist fällbare Baryumsalz überführen. Die Ausbeute betrug ca. 6 Theile pro 100 Theile Conglutin.

Der in der beschriebenen Weise aus der Zersetzungsflüssigkeit abgeschiedenen salzsauren Glutaminsäure waren

---

[1]) Ritthausen: Die Eiweisskörper etc., S. 213.

jedoch Salzsäure-Verbindungen anderer Amidosäuren (hauptsächlich wohl des Leucins) in nicht unbeträchtlicher Quantität beigemengt[1]). Wir schlugen daher später bei Verarbeitung der Zersetzungsflüssigkeit folgenden Weg ein: Die Flüssigkeit wurde gleich anfangs von der Salzsäure befreit, dann so weit eingedunstet, dass beim Erkalten Tyrosin auskrystallisirte; dasselbe wurde abfiltrirt, zuerst mit kaltem Wasser, dann mit verdünntem Weingeist gewaschen. Die Mutterlauge lieferte bei weiterem Eindunsten eine Krystallisation, welche hauptsächlich aus Leucin bestand. Das Filtrat davon erhitzten wir mit Baryumcarbonat, um Glutamin- und Asparaginsäure in die leicht löslichen Baryumsalze überzuführen und dampften dasselbe dann weiter ein; es erfolgten nun noch weitere, hauptsächlich aus Leucin bestehende Ausscheidungen, welche ebenso wie die erste auf einem Zeugfilter abfiltrirt, mit verdünntem Weingeist gewaschen, dann zwischen Filtrirpapier stark abgepresst wurde. Diese Ausscheidungen wollen wir im Folgenden als Rohleucin bezeichnen. Als die von denselben abfiltrirte Mutterlauge nur noch wenig Krystallinisches lieferte, versetzten wir sie zur Ausfällung von glutaminsaurem und asparaginsaurem Baryum mit Weingeist, nachdem sie zuvor zur Zersetzung der vorhandenen Ammoniaksalze nach Zusatz von etwas Barythydrat längere Zeit erhitzt worden war[2]). Da jedoch durch den Weingeist, wenn man ihn in grosser Menge zusetzt, auch ein Theil des in der Flüssigkeit noch vorhandenen Leucins ausgefällt wird, so verfuhren wir in folgender Weise: Die Flüssigkeit wurde zunächst nur mit soviel Weingeist versetzt, dass die Baryumsalze zum Theil ausgefällt wurden; die vom Ausgeschiedenen abgegossene weingeistige Lösung liessen

---

[1]) Die vom Zinn befreite und dann bis zum Syrup eingedunstete Zersetzungsflüssigkeit erstarrte zuweilen bei längerem Stehen fast vollständig zu einem Krystallbrei.

[2]) Bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Säuren entsteht bekanntlich neben Amidosäuren auch Ammoniak. In der vermittelst Silberoxyd von der Salzsäure fast vollständig befreiten Flüssigkeit muss sich der Ammoniak z. Th. in Verbindung mit Glutaminsäure und Asparaginsäure vorfinden.

wir dann im Wasserbade so weit eindunsten, dass nach dem Erkalten noch eine leucinhaltige Ausscheidung erfolgte; letztere wurde nach mehrtägigem Stehen abfiltrirt, die Mutterlauge davon wieder mit Weingeist versetzt, die dadurch hervorgebrachte Fällung mit der früheren vereinigt, dann noch einmal in Wasser gelöst und durch Weingeistzusatz niedergeschlagen[1]). Die vom Ausgeschiedenen abgegossene Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten noch etwas Rohleucin. Auf solche Weise suchten wir die Baryumsalze der Glutaminsäure und Asparaginsäure möglichst vollständig von Leucin und ähnlichen Amidosäuren zu trennen.

Die durch den Weingeistzusatz hervorgebrachte syrupförmige Ausscheidung, welche die oben gewonnenen Baryumsalze einschloss, wurde in Wasser gelöst; aus der Lösung das Baryum vermittelst Schwefelsäure genau ausgefällt. Die vom Baryumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit lieferte nach dem Eindunsten eine reichliche krystallinische Ausscheidung. Um daraus Glutaminsäure zu isoliren, lösten wir die ganze Masse (mit Einschluss der Mutterlauge) in der Wärme in überschüssiger concentrirter Salzsäure. Aus dieser Lösung schied sich nach einiger Zeit salzsaure Glutaminsäure aus. Sie wurde, nach mehrtägigem Stehen, auf einem Zeugfilter abfiltrirt, mit etwas concentrirter Salzsäure gewaschen, dann getrocknet. Bei der Zerlegung mittelst Silberoxyds lieferte sie anscheinend reine Glutaminsäure (mit einem der Formel $C_5H_9NO_4$ entsprechenden Stickstoffgehalt).

Die von der salzsauren Glutaminsäure abfiltrirte Flüssigkeit befreiten wir durch Eindampfen und darauffolgende Behandlung mit Silberoxyd von der Salzsäure, sättigten sie darauf mit Kupferoxydhydrat und fügten dann in kleinen Antheilen Bleiessig zu. Es entstand ein Niederschlag, welcher fast ausschliesslich aus asparaginsaurem Blei zu bestehen schien[2]). Derselbe wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, sodann mit Schwefelwasserstoff zerlegt.

---

[1]) Bei einer zweiten Darstellung kochten wir die durch den Weingeist hervorgebrachte syrupförmige Ausscheidung noch einmal mit verdünntem Weingeist aus.

[2]) Die aus diesem Bleisalz abgeschiedene Amidosäure wurde in

Das Filtrat von diesem Niederschlag lieferte, nachdem es vermittelst Schwefelwasserstoff von Blei und Kupfer befreit und darauf eingedunstet worden war, noch eine leucinhaltige Ausscheidung, jedoch in nicht beträchtlicher Quantität.

In der beschriebenen Weise erhielten wir in zwei möglichst sorgfältig durchgeführten Versuchen aus 100 Gewichtstheilen Conglutin im Mittel 2,2 Gewichtstheile Tyrosin und 15,3 Gewichtstheile Rohleucin[1]).

Die Ausbeute an Glutaminsäure zeigte starke Schwankungen; in dem einen Versuch wurden aus 10 Theilen Conglutin 9 Theile Glutaminsäure erhalten, im zweiten Versuch dagegen 13 Theile (berechnet aus dem Gewicht der in der beschriebenen Weise gewonnenen salzsauren Glutaminsäure). Ob die Abscheidung der Säure in Form der Salzsäureverbindung eine unvollständige war, oder ob andere Umstände das Resultat beeinflussten, müssen wir dahingestellt sein lassen. Die Ausbeute an Asparaginsäure betrug ungefähr 1,5 Theile pro 100 Theile Conglutin.

Solche Zahlenangaben können selbstverständlich nur einen beschränkten Werth beanspruchen; denn die zur Trennung der einzelnen Produkte verwendeteten Methoden lassen viel zu wünschen übrig und es sind beträchtliche Substanzverluste nicht zu vermeiden; die zur Abscheidung gebrachten Mengen der einzelnen Amidosäuren müssen daher von den beim Zerfall der Eiweisssubstanz wirklich entstandenen Quantitäten mehr oder weniger abweichen. Am geringsten ist die Differenz wohl beim Tyrosin, da dieser

heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferoxydhydrat gesättigt und dann im Wasserbade noch etwas concentrirt. Beim Erkalten schied sich in lockeren, hellblauen Krystallnadeln ein Kupfersalz aus, welches in seinem Aussehen etc. mit asparaginsaurem Kupfer vollständig übereinstimmte. Die Mutterlauge lieferte beim Eindunsten noch ein wenig von dem gleichen Salze, ausserdem eine sehr geringe Menge eines im Aussehen mit dem glutaminsauren Kupfer übereinstimmenden Kupfersalzes.

[1]) Zahlenbelege: a) 59,3 gr. Conglutin (wasserfrei) geben 1,1 gr. = 1,9% Tyrosin und 9,5 gr. = 16,0% Rohleucin. — b) 73,8 gr. Conglutin (wasserfrei) gaben 1,74 gr. = 2,4% Tyrosin und 10,7 = 14,5% Rohleucin.

Körper wegen seiner Schwerlöslichkeit sich am leichtesten isoliren lässt (indessen ist darauf aufmerksam zu machen, dass geringe Tyrosinmengen sich zuweilen selbst noch in den letzten Mutterlaugen vorfinden). Beim Leucin stehen zwei Fehler sich gegenüber: es bleibt ohne Zweifel ein Theil des Leucins in der Mutterlauge zurück; andererseits ist das zur Abscheidung gebrachte Rohprodukt durch andere Amidosäuren stark verunreinigt und es ist nicht mögiich, diese anderen Stoffe quantitativ vom Leucin zu trennen (wir haben daher nur für die Quantität des Rohprodukts eine Zahl angegeben). Die Abscheidung der Glutaminsäure in Form ihrer Salzsäureverbindung ist jedenfalls keine vollständige; auch vollständige Gewinnung der Asparaginsäure (durch Fällung mit Bleiessig) ist wohl nicht möglich — schon desshalb nicht, weil im Ueberschuss des Fällungsmittels der Niederschlag sich wieder auflöst. Wenn wir nun trotz solcher, den Gewinnungsmethoden anhaftenden Mängel die Quantitäten der einzelnen Produkte zu ermitteln suchten und die dabei erhaltenen Zahlen mittheilen, so liegt der Grund dafür hauptsächlich darin, dass es wünschenswerth erschien, nicht nur in Bezug auf die Qualität der gewonnenen Produkte, sondern auch in Bezug auf die Quantität derselben die Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure mit der Zersetzung des gleichen Eiweissstoffes durch Barytwasser vergleichen zu können.

Ehe wir zur Mittheilung der Resultate übergehen, welche bei der näheren Untersuchung der einzelnen Produkte erhalten wurden, sind einige Bemerkungen vorauszuschicken. Da früher schon durch Ritthausen nachgewiesen worden ist, dass bei der Zersetzung des Conglutins durch eine Mineralsäure (verd. Schwefelsäure) Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin und Tyrosin entstehen, da ferner die gleichen Produkte bei der Zersetzung vegetabilischer Eiweisssubstanzen durch Salzsäure erhalten wurden[1]), so konnte eine nähere Untersuchung der in der beschriebenen Weise aus dem Conglutin von uns erhaltenen Produkte behufs Identificirung derselben

[1]) Von Hlasiwetz und Habermann (l. c.) aus dem Legumin, von uns aus dem Kürbisglobulin.

kaum als nöthig betrachtet werden. Dass wir trotzdem für drei dieser Produkte, nämlich für Tyrosin, Leucin und Glutaminsäure eine solche Untersuchung ausgeführt haben, geschah, weil es nöthig war, diese Körper hinsichtlich ihrer Eigenschaften mit denjenigen zu vergleichen, welche bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser erhalten wurden. Ausserdem mussten wir festzustellen suchen, ob auch unter den Zersetzungsprodukten des Conglutins Phenylamidopropionsäure sich vorfinde.

1. Tyrosin. Dasselbe wurde nach dem von Hlasiwetz und Habermann angegebenen Verfahren gereinigt. Es wich im Aussehen nicht vom gewöhnlichen Tyrosin ab und gab sowohl die Hoffmann'sche, wie die Piria'sche Reaktion. In Uebereinstimmung mit den von J. Mauthner[1]) gemachten Angaben erwies es sich als optisch wirksam; eine Lösung von 1 gr. Substanz in 4procentiger Salzsäure, auf 20 cbcm. gebracht, drehte im Soleil-Ventzke'schen Apparat im 200 mm. Rohr 4,5° nach links. Daraus berechnet sich $\alpha_D = -15{,}6$. Eine Lösung von 1 gr. Substanz in 21proc. Salzsäure dagegen drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen nur 2,4—2,5° nach links; daraus berechnet sich $\alpha_D = 8{,}48$[2]). Das Drehungsvermögen verringerte sich also mit steigender Concentration der zur Auflösung des Tyrosins verwendeten Salzsäure.

Um die Löslichkeit des Präparats in Wasser zu bestimmen, wurde eine Portion desselben mehrere Tage lang unter häufigem Umschütteln mit kaltem Wasser in Berührung gelassen. Von der abfiltrirten Lösung wurden abgewogene Antheile in Platinschälchen eingedampft, der Rückstand bei 100° getrocknet und gewogen. Wir erhielten so folgende Resultate:

1. 67,970 gr. Lösung (bei 20°) gaben 0,0325 gr. Rückstand.
2. 59,593 gr. Lösung (bei 20°) gaben 0,0284 gr. Rückstand.

---

[1]) Jahresbericht für Thierchemie, 1882, S. 81.

[2]) Diese letztere Zahl liegt derjenigen nahe, welche Mauthner für Tyrosin anderer Herkunft in einer salzsauren Lösung (dargestellt unter Anwendung von Salzsäure gleicher Concentration) fand.

1 Theil Substanz hatte demnach im Mittel 2094 Theile Wasser von 20° zur Lösung bedurft. Diese Zahl liegt ziemlich nahe derjenigen, welche Städeler[1]) früher für Tyrosin gefunden hat, differirt dagegen mehr von der von Erlenmeyer und Lipp gefundenen Löslichkeit (1 Theil Substanz in 2491 Theilen Wasser[2]).

Für ein zweites Präparat wurde eine Löslichkeit von 1:1944 (bei 19—20°) gefunden.

2. Glutaminsäure. Die aus ihrer Salzsäure-Verbindung abgeschiedene Säure krystallisirte in einigen Fällen in stark glänzenden Tetraedern; rhombische Tetraeder bilden aber bekanntlich eine charakteristische Krystallform der Glutaminsäure. Die durch Ueberführung in das Kupfersalz und Wiederabscheidung aus demselben (mittelst Schwefelwasserstoff) gereinigte Säure krystallisirte in kleinen glänzenden Blättchen (das Gleiche haben wir bei Glutaminsäure anderer Herkunft beobachtet). Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode gab für zwei verschiedene Präparate folgende Zahlen:

1. 0,3430 gr. Substanz gaben 0,032357 gr. N (= 8,25 cbcm. Barytwasser b).
2. 0,3505 gr. Substanz gaben 0,033783 gr. N (= 8,45 cbcm. Barytwasser a).

	Berechnet für:	Gefunden:	
	$C^5H^9NO^4$	1.	2.
N	9,52%	9,43%	9,63%

Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens im Soleil-Ventzke'schen Apparat gab folgende Resultate:

1. Eine Lösung von 1 gr. Substanz in 15 procentiger Salzsäure, auf 20 cbcm. gebracht, drehte bei 15° im 200 mm. Rohr 9,3° nach rechts.
2. Eine Lösung von 0,998 gr. von einem anderen Präparat in 20 cbcm. verdünnter Salzsäure drehte 9° nach rechts.

Daraus berechnet sich im Mittel $\alpha_D = +31,7$. Ritthausen und Rellstab[3]) haben für eine salpetersaure Lösung der Glutaminsäure $\alpha_D = +34,7$ gefunden.

---

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 116, S. 57.

[2]) Ebendaselbst, Bd. 219, S 173.

[3]) Journal für praktische Chemie, Bd. 107, S. 239.

Aus einer Lösung unserer Säure in heisser concentrirter Salzsäure krystallisirte bald nach dem Erkalten in glänzenden kleinen Tafeln die Salzsäureverbindung. Wurde eine Lösung der Säure mit Kupferoxydhydrat gesättigt und dann eingedunstet, so schied sich schon in der Wärme das charakteristische Kupfersalz der Glutaminsäure als schweres blaues Krystallpulver aus.

3. Leucin. Um ein reines Leucinpräparat herzustellen, verfuhren wir in folgender Weise: Das Rohleucin mit Ausschluss der letzten Krystallisationen wurde aus verdünntem, ammoniakhaltigem Weingeist umkrystallisirt, die so erhaltene, aus kleinen Blättchen bestehende Krystallmasse, welche wohl schon an und für sich ein ziemlich reines Leucin-Präparat darstellte, in heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferoxydhydrat gesättigt. Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche wir nach dem Abfiltriren und Auswaschen durch Schwefelwasserstoff zersetzten. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Lösung wurde zur Krystallisation verdunstet, das resultirende Produkt sodann noch aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt. So erhielten wir ein Präparat, welches aus weissen, atlasglänzenden Blättern bestand und vollkommen das Verhalten des Leucins zeigte. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0,3160 gr. gaben 0,033729 gr. N (= 8,6 cbcm. Barytwasser b).
2. 0,3096 gr. gaben 0,032160 gr. N (= 8,2 cbcm. Barytwasser b).

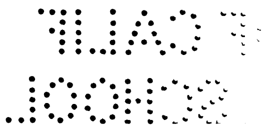
	Berechnet für $C^6H^{13}NO^2$	Gefunden: 1.	1.
N	10,69%	10,67%	10,39%

Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens gab folgende Resultate:

1. Eine Lösung von 1 gr. Substanz in 19 procentiger Salzsäure, auf 20 cbcm. gebracht, drehte im 200 mm. Rohr 5,0°. S.-V. nach rechts.
2. Eine Lösung von 1 gr. Substanz von einem zweiten Präparat in 20 cbcm. mit 15 procent. Salzsäure drehte 5,0°. S.-V. nach rechts.

Daraus berechnet sich $\alpha_D = +17,3$[1]).

[1]) Die Zahl liegt der von J. Mauthner (diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 222) gefundenen sehr nahe. In wässeriger Lösung ist Leucin links-



Zur Bestimmung der Löslichkeit wurde eine Portion der Krystalle mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Quantität Wasser schwach erwärmt, sodann ca. zwei Tage lang bei gewöhnlicher Temperatur damit in Berührung gelassen; der Substanzgehalt der so erhaltenen Lösungen wurde durch Eindampfen abgewogener Antheile in einem Platinschälchen oder einem Glasgefäss in bekannter Weise bestimmt. Es ergaben sich folgende Zahlen:

1. 7,045 gr. Lösung (bei 22°) gaben 0,169 gr. Rückstand.
2. 7,008 gr. einer zweiten Lösung gaben 0,168 gr. Rückstand.

Ein Theil Substanz bedurfte demnach im Mittel zur Lösung 41 Theile Wasser (bei 22°).

Für ein zweites Präparat der gleichen Substanz wurde (im Mittel von zwei in der gleichen Weise ausgeführten Bestimmungen) eine Löslickeit von 1 Theil Substanz in 37 Theilen Wasser gefunden. Diese Differenz lässt sich nicht auf die Art und Weise, in welcher die Bestimmungen ausgeführt wurden, zurückzuführen (denn es wurde die nöthige Sorgfalt auf die Versuche verwendet und die Einzelbestimmungen differirten untereinander nur wenig); sie kann wohl nur durch die Annahme erklärt werden, dass die beiden zur Verwendung gekommenen Präparate (welche beide schön krystallisirt waren) nicht ganz den gleichen Reinheitsgrad besassen. Es scheint, dass sehr geringe Beimengungen die Löslichkeit des Leucins[1]) stark beeinflussen[2]).

4. Phenylamidopropionsäure. Nachdem constatirt worden war, dass das Rohleucin bei der Oxydation mittelst Chromsäuremischung Benzoësäure lieferte, versuchten wir aus den letzten Krystallisationen derselben nach dem früher schon beschriebenen Verfahren Phenyl-

drehend, wie zuerst von J. Lewkowitsch (Berliner Berichte, Bd. 17, S. 1439) beobachtet worden ist.

[1]) Das Gleiche gilt wohl für andere Amidosäuren.

[2]) Für Leucin wird in der Regel eine Löslichkeit von 1 Theil in 27 Theilen kalten Wassers angegeben. Doch haben sowohl Hüfner wie Nencki Präparate von natürlichem Leucin unter Händen gehabt, von welchen 1 Theil mehr als 40 Theile kalten Wassers zur Lösung bedurfte (man vergleiche Fehling's Handwörterbuch der Chemie).

amidopropionsäure zu gewinnen. Jene Krystallisationen wurden zunächst einmal unter möglichster Vermeidung von Verlusten (also unter Aufarbeitung aller Mutterlaugen) aus Wasser umkrystallisirt, dann in heissem Wasser gelöst; in die Lösung wurde eine zur Sättigung nicht ganz hinreichende Quantität von Kupferoxydhydrat eingetragen, Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und sodann mit Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Die vom Schwefelkupfer ablaufende Lösung wurde wieder mit Kupferoxydhydrat erhitzt, die dabei erhaltene Kupferverbindung ebenso wie vorhin behandelt; die nun resultirende Amidosäurelösung wurde einer fraktionirten Fällung mit Kupferacetat unterworfen. Die aus den zuerst ausgefallenen Kupferverbindungen abgeschiedenen Amidosäuren brachten wir zur Krystallisation und verwendeten sie sodann für die Elementar-Analyse. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

1. Substanz A aus Fällung I: 0,20405 gr. gaben 0,4718 gr. CO_2 und 0,1475 gr. H_2O.
2. Substanz B aus Fällung II: 0,2040 gr. gaben 0,4500 gr. CO_2 und 0,1475 gr. H_2O.

	A, aus Fällung I:	B, aus Fällung II:
C	62,92%	60,15%
H	7,63 «	8,03 «
N	—	—
O	—	—

Die Zusammensetzung der beiden analysirten Substanzen weicht von derjenigen des Leucins und seiner Homologen sehr weit ab, da diese Körper auf den gleichen Kohlenstoffgehalt weit mehr Wasserstoff enthalten[1]; sie entspricht dagegen der Annahme, dass ein Gemenge von Leucin und Phenylamidopropionsäure vorlag: Der C- und H-Gehalt von Substanz A würde z. B. mit demjenigen eines Gemenges von 75 Theilen Phenylamidopropionsäure und 25 Theilen Leucin

[1]) Leucin enthält z. B. 54,96% C und 9,92% H, Amidocaprylsäure 60,60% C und 10,70% H. Tyrosin fand sich in den für die Analyse benutzten Präparaten höchstens in Spuren vor. (Die Lösung des einen Präparats gab mit Millon'schem Reagenz ganz schwache Rothfärbung.)

(welches 62,83% C und 7,48% H enthält) sehr nahe übereinstimmen. Einer solchen Annahme entsprach auch das Verhalten, welches jene Substanzen beim Erhitzen im Proberohr zeigten; dieses Verhalten glich demjenigen, welches von einem Gemenge der beiden oben genannten Amidosäuren zu erwarten ist.

Aus den Ergebnissen der oben aufgeführten Analysen ist zu schliessen, dass hier (ebenso wie bei dem analogen Produkt aus Kürbisglobulin) die Phenylamidopropionsäure durch das Kupferacetat früher ausgefällt wurde, als das Leucin; denn beide analysirte Substanzen weichen in der Zusammensetzung weit vom Leucin ab; ferner nähert sich die mit A bezeichnete (erhalten aus der ersten Fraction des Kupferniederschlags) in ihrer Zusammensetzung weit mehr der Phenylamidopropionsäure, als die Substanz B, (welche aus der zweiten Fraction des Kupferniederschlags gewonnen wurde). Es ist daher wahrscheinlich, dass wir reine Phenylamidopropionsäure erhalten haben würden, wenn wir die fractionirte Fällung öfters hätten wiederholen können. Leider reichte die Substanzmenge dazu nicht hin.

Der sichere Beweis dafür, dass unter den bei Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure erhaltenen Produkten Phenylamidopropionsäure sich vorfindet, ist daher von uns nicht beigebracht worden; doch kann ihr Vorhandensein unter jenen Produkten im Hinblick auf die von uns mitgetheilten Thatsachen wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden.

III. Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser[1]).

Die beim Erhitzen von Eiweissstoffen mit Barytwasser entstehenden Produkte sind, wie früher schon erwähnt wurde, von Schützenberger untersucht worden. Der genannte Forscher führte das Erhitzen in einem Gefäss aus, welches aus einem ausgebohrten Gussstahlblock hergestellt und mit luftdicht schliessendem Deckel versehen war.

---

[1]) Für die ersten Parallelversuche (Zersetzung durch Salzsäure und Zersetzung durch Barytwasser) verwendeten wir von uns selbst dargestelltes Conglutin, für die späteren ein Gemenge von solchen mit

Da uns ein solcher Apparat nicht zur Verfügung stand, so verwendeten wir für den gleichen Zweck ein cylindrisches, innen verzinntes, kupfernes Gefäss, versehen mit einem aus dem gleichen Material hergestellten Deckel, welcher durch einen Ring aus Kautschukzeug gedichtet und durch Schrauben angepresst wurde. Nachdem das Gefäss seine Füllung (in der Regel 250 gr. lufttrockenes Conglutin, 750 gr. krystallisirtes Barythydrat und 1000 gr. Wasser) erhalten hatte, wurde es in einem Paraffinbad ca. vier Tage lang auf 150 bis 160° erhitzt. Als nach dem Erkalten das Gefäss geöffnet wurde, stellte der Inhalt derselben eine gelb-braune Flüssigkeit dar, aus welcher sich unlösliche Baryumverbindungen (Baryumcarbonat und Baryumoxalat) und Krystalle von Barythydrat ausgeschieden hatten. Nachdem letztere durch Erwärmen wieder in Lösung übergeführt worden waren, wurde der ganze Inhalt des Gefässes in eine grosse Porzellanschale gebracht und über freiem Feuer so lange erwärmt, bis nur noch schwacher Ammoniakgeruch bemerklich war. Dann setzten wir so viel Schwefelsäure zu, dass das Baryum vollständig oder doch bis auf einen geringen Rest ausgefällt war, filtrirten, wuschen den Niederschlag mit heissem Wasser nach, dunsteten das Filtrat soweit ein, dass nach dem Erkalten das Tyrosin auskrystallisirte. Die von letzterem abfiltrirte, stark braun gefärbte Mutterlauge lieferte bei weiterem Eindampfen Krystallisationen, welche vorzugsweise aus Leucin bestanden (wir wollen sie auch hier als Rohleucin bezeichnen); sie wurden mit Hülfe der Wasserluftpumpe abfiltrirt, mit verdünntem Weingeist gewaschen und zwischen Filtrirpapier stark abgepresst. Da denselben möglicherweise noch etwas Glutaminsäure beigemengt sein konnte, so wurden sie wieder in Wasser gelöst, die heisse Lösung mit etwas

---

dem von G. Grübler bezogenen Präparat. Im letzteren Falle war das für die Zersetzung durch Salzsäure einerseits und für die Zersetzung durch Barytwasser anderseits verwendete Rohmaterial genau gleicher Qualität — im ersteren Falle nur insofern nicht, als verschiedene nach einander aus der gleichen Lupinensorte von uns dargestellte Präparate zur Verwendung kamen.

Baryumcarbonat behandelt (um Glutaminsäure in das leicht lösliche Baryumsalz zu verwandeln) und nach dem Filtriren wieder zur Krystallisation verdunstet, das nun erhaltene reinere Produkt wie früher behandelt (die übrig bleibende, der Menge nach nur geringe Mutterlauge wurde mit der früher erhaltenen vereinigt). Die vom Rohleucin abfiltrirte Mutterlauge, welche noch einen Theil des Leucins, ausserdem noch viel Glutaminsäure enthielt, wurde mit Wasser verdünnt, in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigt, sodann mit Bleiessig in kleinen Antheilen versetzt; Zweck dieser Massregel war, zu versuchen, ob durch das genannte Fällungsmittel Asparaginsäure niedergeschlagen werden konnte. Der so erhaltene Bleiniederschlag wurde nach dem Abfiltriren und Auswaschen mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelblei abfiltrirte Flüssigkeit eingedunstet. Sie lieferte Krystalle, jedoch gemengt mit etwas syrupförmiger Substanz; letztere liess sich durch Auskochen mit Alkohol grösstentheils entfernen. Das Vorhandensein von Asparaginsäure in dieser Krystallisation liess sich jedoch nicht nachweisen; entweder fehte diese Säure ganz, oder sie war nicht von den daneben vorhandenen Substanzen zu trennen. Der grösste Theil jener Krystallisation bestand wahrscheinlich aus Glutaminsäure[1]).

Das vom Bleiessigniederschlag abgelaufene Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei und Kupfer befreit und sodann in der Wärme mit Baryumcarbonat behandelt, um die in grosser Menge vorhandene Glutaminsäure in das Baryumsalz überzuführen. Die filtrirte Lösung lieferte, nachdem sie auf ein geringes Volumen eingedunstet worden war, zunächst noch eine der Menge nach nicht bedeutende Ausscheidung, welche im Aussehen und Verhalten den leucin-

---

[1]) Aus der oben beschriebenen Substanz wurde ein Kupfersalz dargestellt. In der aus letzterem abgeschiedenen Amidosäure wurden im Mittel aus zwei Bestimmungen 9,37% N gefunden (Glutaminsäure enthält 9,53% N). Aus einer Auflösung der Substanz in überschüssiger heisser concentrirter Salzsäure schied sich nach dem Erkalten eine krystallinische Verbindung aus.

haltigen Krystallisationen glich, auch noch etwas Tyrosin einschloss; sie wurde durch Filtration entfernt. Aus der übrigbleibenden Flüssigkeit fällten wir nun das glutaminsaure Baryum durch Weingeist aus. Dabei verfuhren wir ganz ebenso, wie bei der Gewinnung des gleichen Salzes aus der durch Einwirkung von Salzsäure auf Conglutin erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit (man vergl. oben S. 94). Das glutaminsaure Baryum wird, wie dort erwähnt worden ist, zunächst in Form einer syrupförmigen Ausscheidung gewonnen, welche ohne Zweifel neben jenem Salz in geringer Menge noch andere Substanzen einschliesst. Wir lösten dieselbe in Wasser, fällten das Baryum durch Schwefelsäure aus und dunsteten das Filtrat im Wasserbade bis zum dünnen Syrup ein. Letzterer lieferte eine reichliche, krystallinische Ausscheidung. Um ein reineres Produkt zu erhalten, lösten wir sowohl die Krystalle wie die (zuvor verdunstete) Mutterlauge in der Wärme in überschüssiger, concentrirter Salzsäure. Einige Zeit nach dem Erkalten begann aus der Flüssigkeit salzsaure Glutaminsäure sich abzuscheiden. Sie wurde nach ca. 8-täg. Stehen auf einem Zeugfilter abfiltrirt, mit kalter, concentrirter Salzsäure gewaschen, zuerst über Aetzkali, dann in der Wärme getrocknet.

Die vom glutaminsauren Baryum abgegossene weingeistige Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten noch eine ziemlich beträchtliche Quantität von Rohleucin. Schliesslich blieb eine der Menge nach nicht bedeutende syrupartige Mutterlauge über, aus welcher erst nach mehrwöchentlichem Stehen etwas Festes sich ausschied; die darin vorhandenen Stoffe haben wir nicht mehr zu gewinnen gesucht.

In der beschriebenen Weise erhielten wir aus 100 Gewichtstheilen Conglutin im Mittel 2,4 Gewichtstheile Tyrosin und 14,2 Gewichtstheile Rohleucin[1]) (in Betreff des Werths dieser Zahlenangaben verweisen wir auf das früher Gesagte).

[1]) Zahlenbelege: a) 218 gr. Conglutin (= 250 gr. lufttrocken) gaben 5,3 gr. = 2,4% Tyrosin und 32 gr. = 14,7% Rohleucin. b) 218 gr. Conglutin gaben 30 gr. = 13,8% Rohleucin. c) 157 gr. Conglutin (= 180 gr. lufttrocken) gaben 3,9 gr. = 2,48% Tyrosin und 22,1 gr. = 14,1% Rohleucin.

Die Ausbeute an Glutaminsäure lässt sich nicht genau angeben. Das Gewicht der bei Zerlegung des glutaminsauren Baryums erhaltenen Krystallisation, welche allem Anscheine nach hauptsächlich aus Glutaminsäure bestand, betrug ungefähr 12 % vom Gewicht des angewendeten Conglutins, wir haben sie aber, wie oben erwähnt wurde, zur Reinigung noch in die Salzsäureverbindung übergeführt. Die in letzterer Form erhaltene Glutaminsäurequantität war beträchtlich geringer; sie betrug nur ungefähr 7 % vom Conglutin.

Jedenfalls aber war auch bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser, ebenso wie bei der Zersetzung durch Salzsäure, Glutaminsäure in sehr beträchtlicher Quantität entstanden[1]).

---

[1]) Bei der oben beschriebenen Darstellungsweise sind, wie aus den von uns gemachten Angaben zu ersehen ist, die aus dem Conglutin entstehenden Produkte der Einwirkung des Barytwassers bei einer Temperatur von 150—160° unter Druck ausgesetzt. Es frägt sich, ob dabei nicht Amidosäuren unter Ammoniakbildung in die entsprechenden Oxysäuren übergehen können. Nach den von Schützenberger gemachten Mittheilungen ist solches kaum der Fall; denn derselbe gibt an, bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Barytwasser keine anderen stickstofffreien organischen Säuren erhalten zu haben, als Oxalsäure, Essigsäure und Spuren von Ameisensäure, Bernsteinsäure und Milchsäure. Es schien uns jedoch wünschenswerth, selbst einige Versuche anzustellen. Die bei Verarbeitung von 250 gr. lufttrockenen Conglutins erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit wurde (nach Ausfällung des Baryums) mit Schwefelsäure angesäuert und in einem Stöpselcylinder mehrere Male mit Aether ausgeschüttelt. Die vereinigten ätherischen Auszüge wurden eingedunstet, es blieb ein der Menge nach nicht bedeutender Rückstand; wir nahmen denselben mit Wasser auf, wobei ein fettartiger Körper ungelöst blieb und versetzten die filtrirte Lösung mit Bleizucker. Der Bleiniederschlag wurde nach dem Abfiltriren und Auswaschen durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelblei abfiltrirte Lösung in einem gewogenen Schälchen zur Trockene verdunstet. Der so erhaltene Rückstand wog nur 0,185 gr.

Bernsteinsäure oder Säuren aus der Aepfelsäure-Reihe konnten sich möglicherweise auch in dem Niederschlage vorfinden, welcher bei der Prüfung auf Asparaginsäure in der zuvor mit Kupferoxydhydrat gesättigten Zersetzungsflüssigkeit durch Zusatz von Bleiessig hervorgebracht wurde (wie oben näher beschrieben worden ist). Die bei Zersetzung dieses Niederschlags (durch Schwefelwasserstoff) erhaltene Lösung wurde

Zur Mittheilung der Resultate übergehend, welche bei der näheren Untersuchung der einzelnen in der beschriebenen Weise aus dem Conglutin dargestellten Amidosäuren erhalten wurden, haben wir zunächst zu erwähnen, dass diese Amidosäuren im Gegensatz zu den bei Zersetzung des gleichen Eiweissstoffs durch Salzsäure erhaltenen, sich sämmtlich als optisch inaktiv erwiesen[1]. Dieser Befund machte es wünschenswerth, dieselben auch in Bezug auf einige andere Eigenschaften zu untersuchen.

1. Tyrosin. Wir reinigten dasselbe nach den von Hlasiwetz und Habermann angegebenen Verfahren; da es auch nach solcher Behandlung noch gefärbt war, so lösten wir es in verdünnter Salzsäure, entfärbten die Lösung mit Thierkohle und fällten das Tyrosin dann durch Natrium-

---

eingedunstet, der Rückstand zweimal in der Wärme mit Alkohol extrahirt. Der so erhaltene Auszug wurde eingedunstet, der Rückstand in einem Gemisch von Aether und Alkohol aufgenommen, die filtrirte Lösung eingedunstet. Wir erhielten so einen Rückstand, welcher 0,57 gr. wog. Derselbe schien Bernsteinsäure zu enthalten; denn die neutralisirte wässerige Lösung gab mit Eisenchlorid einen braunen Niederschlag.

Aus den im Vorigen gemachten Angaben ist zu schliessen, dass Oxysäuren, falls sie überhaupt vorhanden waren, doch jedenfalls nur in sehr zurücktretender Menge sich vorfanden.

Bernsteinsäure liess sich deutlicher nachweisen unter den Produkten, welche in einem anderen, nicht ganz korrekt verlaufenen Versuch erhalten wurden. In diesem Versuch war aus dem kupfernen Zersetzungsgefäss, welches das Conglutin und das Barytwasser enthielt, während des Erhitzens das Wasser vollständig verdunstet, weil der Deckel nicht luftdicht geschlossen hatte. Der Versuch wurde trotzdem fortgesetzt, nachdem neues Wasser hineingefüllt worden war. In der so erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit entstand, als dieselbe nach dem Auskrystallisiren des Tyrosins und des meisten Leucins mit Kupferoxydhydrat gesättigt und dann mit Bleiessig versetzt wurde ein relativ starker Niederschlag. Von dem aus letzterem abgeschiedenen Säuregemenge wurde ein ziemlich grosser Theil durch Alkohol gelöst, die Lösung lieferte beim Verdunsten Krystalle, welche die Eigenschaften der Bernsteinsäure zeigten. Sie sublimirten beim Erhitzen im Proberohr; die neutralisirte wässerige Lösung gab mit Eisenchlorid einen braunen Niederschlag, mit Bleizucker eine weisse Fällung.

[1]) Eine ganz kurze Mittheilung darüber ist in den Berichten der deutschen Gesellschaft, Bd. 17, H. 12, gemacht worden.

acetat wieder aus. Schliesslich wurde es noch einmal in sehr verdünnter kochender Ammoniakflüssigkeit aufgelöst; aus der mit Salzsäure neutralisirten Lösung schied es sich während des Erkaltens in feinen glänzenden Nadeln wieder aus. Nach dem Abfiltriren und Trocknen bildete es eine lockere, glänzende Masse, im Aussehen mit dem gewöhnlichen Tyrosin übereinstimmend. Es gab sowohl die Hoffmann-sche, wie die Piria'sche Reaction. Weder die Salzsäure, noch die alkalische, mit Hülfe von etwas Natronlauge hergestellte, Lösung war optisch activ. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Zahlen:

1. 0,3046 gr. Substanz gaben 0,02314 gr. N (= 5,9 cbcm. Barytwasser b).
2. 0,3106 gr. Substanz gaben 0,023916 gr. N (= 6,1 cbcm. Barytwasser b).

	Berechnet für $C_9H_{11}NO_3$	Gefunden: 1.	2.
N	7,73%	7,60%	7,70%

Die Bestimmung der Löslichkeit, ausgeführt in derselben Weise wie bei den mittelst Salzsäure aus Conglutin dargestelltem Tyrosin, gab folgende Resultate[1]):

1. 54,197 gr. Lösung (hergestellt bei 21°) gaben 0,0155 gr. Rückstand.
2. 51,338 gr. einer zweiten Lösung (hergestellt bei 22°) gaben 0,0150 gr. Rückstand.

Im Mittel hatte demnach 1 Theil Substanz 3458 Theile Wasser von 21—22° zur Lösung bedurft; die Löslichkeit unseres Präparates war also geringer, als die des gewöhnlichen Tyrosins (man vergleiche die für letzteres früher auf Seite 99 angegebenen Zahlen). Für ein zweites Präparat wurde eine Löslichkeit von 1:3200 (bei 17½°) gefunden.

2. Glutaminsäure. Die aus der Salzsäureverbindung abgeschiedene Säure wurde in das Kupfersalz übergeführt, letzteres durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die so gereinigte Säure aus Wasser umkrystallisirt. Sie schied sich aus der wässerigen Lösung in kleinen Blättchen aus; tetrædrische Krystalle haben wir niemals erhalten. Die Elementar-Analyse,

[1]) Das für diese Versuche benutzte Tyrosinpräparat war zuvor noch einmal aus Wasser umkrystallisirt worden, das zweite Präparat nicht.

für welche zwei wiederholt umkrystallisirte Präparate verwendet wurden, gab folgende Resultate:

1. 0,2369 gr. Substanz gaben 0,3535 gr. CO_2 und 0,1320 gr. H_2O.
2. 0,3080 gr. Substanz gaben 0,029611 gr. N (= 7,55 cbcm. Barytwasser b).
3. 0,2303 gr. Substanz gaben 0,021989 gr. N (= 5,5 cbcm. Barytwasser a).

	Berechnet für $C_5H_9NO_4$	Gefunden: 1.	2.	3.
C	40,81 %	40,69 %	—	—
H	6,12 «	6,19 «	—	—
N	9,53 «	—	9,61 %	9,50 %
O	43,54 «	—	—	—

Weder in salzsaurer und in alkalischer, noch in wässeriger Lösung zeigte die Säure optische Wirksamkeit.

Die Bestimmung der Löslichkeit lieferte folgende Zahlen:

1. 19,121 gr. Lösung (bei 19°) gaben 0,4019 gr. Rückstand.
2. 14,660 gr. Lösung (bei 20°) gaben 0.3292 gr. Rückstand.

1 Theil Substanz bedurfte demnach im Mittel 45 Theile Wasser von 19—20° zur Lösung. Unsere Säure ist also eichter löslich, als die gewöhnliche Glutaminsäure, von welcher 1 Theil sich in ungefähr 100 Theilen kalten Wassers auflöst.

Aus der mit Kupferoxydhydrat gesättigten Lösung der Säure schied sich das Kupfersalz in der Regel schon während des Eindunstens der Flüssigkeit als schweres blaues Krystallpulver aus, im Aussehen vom gewöhnlichen glutaminsauren Kupfer nur wenig abweichend. Die Analyse gab Zahlen, welche der Formel $C_5H_7NO_4Cu + 3H_2O$ entsprechen.

1. 1,0610 gr. lufttrockener Substanz gaben 0,3162 gr. CuO.
2. 0,5255 gr. lufttrockener Substanz verloren beim Trocknen bei 110° 0,1055 gr. an Gewicht.

	Berechnet für $C^5H^7NO^4Cu + 3H^2O$	Gefunden:
H^2O	20,6 %	20,1 %
Cu	24,2 «	23,8 «

Von der gewöhnlichen Glutaminsäure existiren nach den von Ritthausen u. A. gemachten Angaben Kupfersalze mit 2, 2½ und 3 Molekülen Wasser.

3. Leucin. Zur Darstellung eines reinen Leucinpräparates verfuhren wir ganz ebenso wie zur Isolirung eines solchen aus den mittelst Salzsäure erhaltenen Zersetzungsprodukten des Conglutins. Die ersten Portionen des Rohleucins (ungefähr 2/3 vom Gesammtgewicht des letzteren ausmachend) wurden aus ammoniakhaltigem, verdünntem Weingeist umkrystallisirt, das so erhaltene Produkt in heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferoxydhydrat annähernd gesättigt, die ausgeschiedene Kupferverbindung durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die daraus gewonnene Amidosäure wiederholt umkrystallisirt. Dieselbe glich im Aussehen dem gewöhnlichen Leucin; doch war der Habitus der Krystalle nicht völlig der gleiche. Sie erwies sich sowohl in wässeriger, wie in salzsaurer und in alkalischer Lösung[1]) als optisch inaktiv. Die Elementar-Analyse lieferte folgende Resultate:

1. 0,2015 gr. Substanz gaben 0,4065 gr. CO_2 und 0,1812 gr. H_2O.
2. 0,2225 gr. Substanz (von einem anderen Präparat) gaben 0,448 gr. CO_2 und 0,201 gr. H_2O.
3. 0,2245 gr. Substanz gaben 0,024188 gr. N (= 6,05 cbcm. Barytwasser a).

	Berechnet für $C^6H^{13}NO^2$	Gefunden: 1.	2.	3.
C	54,96%	55,01%	54,83%	—
H	9,92 «	9,99 «	10,03 «	—
N	10,69 «	—	—	10,77%
O	24,43 «	—	—	—

Die Bestimmung der Löslichkeit, ausgeführt in derselben Weise wie bei dem mittelst Salzsäure aus Conglutin dargestellten Leucin lieferte folgende Resultate:

1. 5,425 gr. Lösung gaben 0,0505 gr. Rückstand.
2. 3,1622 einer zweiten Lösung gaben 0,0295 gr. Rückstand.

1 Theil Substanz bedurfte demnach im Mittel 106,5 Theile Wasser von Zimmertemperatur[2]) zur Lösung.

---

[1]) Die alkalische Lösung wurde mit Hülfe von etwas Natronlauge hergestellt.

[2]) Wir vermögen die Temperatur nicht genauer anzugeben, weil die betreffende Notiz verloren wurde. Doch war diese Temperatur jedenfalls nur wenig verschieden von derjenigen, bei welcher in den anderen, oben aufgeführten Versuchen die Lösungen hergestellt wurden.

Für ein zweites, gleichfalls sehr schön krystallisirtes Präparat der gleichen Substanz, welches bei der Elementar-Analyse richtige Zahlen gab, wurden folgende Zahlen gefunden:

1. 7,5373 gr. Lösung (bei 18°) gaben 0,0766 gr. Rückstand.
2. 13,674 gr. Lösung (bei 17°) gaben 0,1410 gr. Rückstand.

1 Theil Substanz bedurfte also im Mittel 96,7 Theile Wasser von 17—18° zur Lösung.

Die nicht unbeträchtliche Differenz, welche in der Löslichkeit der bei den Präparate sich zeigte, ist wohl hauptsächlich darauf zurückzuführen, dass dieselben nicht ganz den gleichen Reinheitsgrad besassen (sehr geringe Beimengungen scheinen die Löslichkeit der Amidosäuren stark zu beeinflussen, wie schon früher von uns hervorgehoben worden ist). Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die Löslichkeit beider Präparate noch etwas geringer geworden wäre, wenn wir dieselben noch wiederholt umkrystallisirt hätten.

Jedenfalls aber besass dieses optisch inaktive Leucin eine bedeutend geringere Löslichkeit, als das mittelst Salzsäure aus dem Conglutin erhaltene Leucin. Auch alle übrigen bis jetzt untersuchten Präparate von natürlichem (aus Eiweissstoffen etc. dargestelltem) Leucin wurden als leichter löslich befunden.

Wurde in die heisse wässerige Lösung unseres Leucins Kupferoxydhydrat eingetragen, so schied sich schon in der Wärme eine krystallinische Kupferverbindung so vollständig aus, dass die darüberstehende Flüssigkeit ganz farblos wurde. Das Gleiche war der Fall, als der heissen wässerigen Lösung Kupferacetatsolution zugesetzt wurde; das so erhaltene Leucinkupfer war demnach durch Schwerlöslichkeit ausgezeichnet. Im Aussehen wich dasselbe von der Kupferbindung des gewöhnlichen Leucins nicht ab.

4. Phenylamidopropionsäure. Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass in demjenigen Antheil der bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser erhaltenen Produkte, welchen wir als Rohleucin bezeichnet haben, als Hauptbestandtheil ein Leucin sich

vorfindet. Unsere weiteren Versuche sollten hauptsächlich entscheiden, ob neben demselben auch Phenylamidopropionsäure vorhanden sei. Zu diesem Zweck haben wir zunächst die Stoffgemenge, welche nach Abscheidung der im Vorigen beschriebenen Substanz aus dem Rohleucin noch übrig blieben, der Elementar-Analyse unterworfen und auf ihr Verhalten untersucht.

Die blaue Flüssigkeit, welche von der für die Reindarstellung des Leucins verwendeten Kupferverbindung abfiltrirt war, wurde durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und dann fast bis zur Trockene eingedunstet. Das so erhaltene Produkt glich im Aussehen und im Verhalten dem unreinen Leucin; Tyrosin war darin jedenfalls nur in sehr geringer Menge vorhanden, denn es löste sich ziemlich leicht in warmem Wasser und diese Lösung gab mit Millon'schem Reagens nur sehr schwache Rothfärbung. Die Elementar-Analyse gab folgende Resultate[1]:

0,2711 gr. Substanz gaben 0,5540 gr. CO_2 = 55,73% C und 0,2310 gr. H_2O = 9,47% H.

Demnach enthielt diese Substanz etwas mehr Kohlenstoff, weniger Wasserstoff, als Leucin.

Für weitere Versuche wurden die letzten Krystallisationen des Rohleucins verwendet, welche dem Gewicht nach ungefähr 1/3 von der Gesammtmenge ausmachten. Sie wurden zunächst unter möglichster Vermeidung von Verlusten (also unter Aufarbeitung aller Mutterlaugen) zweimal aus Wasser umkrystallisirt[2]). Die so erhaltene, nur noch schwach gelb gefärbte Substanz glich im Aussehen dem ganz unreinen Leucin. Die wässerige Lösung derselben war nicht deutlich sauer (Glutaminsäure konnte demnach nur in geringer Menge

[1]) Das analysirte Präparat enthielt 0,5% Asche. Die obigen Zahlen sind auf aschefreie Substanz umgerechnet.

[2]) Die verschiedenen während dieser Reinigungsoperation erhaltenen Krystallisationen wurden auf Filter gebracht, mit verdünntem Weingeist gewaschen, dann unter Benutzung einer kleinen Schraubenpresse zwischen Fliesspapier möglichst stark abgepresst. So gelingt es, die Mutterlauge ziemlich vollständig zu entfernen.

vorhanden sein); sie gab beim Erwärmen mit Millon'schem Reagens nur noch sehr schwache Rothfärbung (Tyrosin fand sich also nur in Spuren vor). Bei der Oxydation durch Kaliumbichromat und verdünnte Schwefelsäure lieferte sie eine im Aussehen und Verhalten mit Benzoësäure übereinstimmende Säure. Das Silbersalz derselben, im Aeusseren vollständig dem benzoësauren Silber gleichend, hinterliess beim Glühen 46,91 % Ag[1]), während die Formel:

$$C_7 H_5 Ag O_2$$

47,16 % Ag verlangt.

Die Elementar-Analyse der im Vorigen beschriebenen Substanz gab folgende Resultate[2]):

1. 0,2235 gr. Substanz gaben 0,4630 gr. CO_2 und 0,1932 gr. H_2O.
2. 0,2100 gr. Substanz gaben 0,4340 gr. CO_2 und 0,1805 gr. H_2O.
3. 0,3296 gr. Substanz gaben 0,032945 gr. N (= 8,4 cbcm. Barytwasser b).

	Gefunden:		
	1.	2.	3.
C	56,49%	56,36%	—
H	9,60 «	9,55 «	—
N	—	—	10,00%
O	—	—	=

Der C-Gehalt war demnach um etwa 1½ % höher, der H-Gehalt um fast 0,5 % niedriger, als beim Leucin. Da die analysirte Substanz bei der Oxydation Benzoësäure lieferte, so liess sich vermuthen, dass sie Phenylamidopropionsäure einschloss; dass daneben auch noch Leucin sich vorfand, war von vorneherein anzunehmen (der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme wird später noch beigebracht werden).

Man durfte demnach vermuthen, dass die analysirte Substanz im Wesentlichen ein Gemenge von Leucin und Phenylamidopropionsäure sei. Ihre Elementar-Zusammensetzung würde in der That mit derjenigen eines Gemenges von 85 Theilen Leucin und 15 Theilen Phenylamidopropion-

---

[1]) 0,1620 gr. Substanz hinterliessen beim Glühen 0,0760 gr. Ag (das letztere löste sich in Salpetersäure, ohne einen kohligen Rückstand zu lassen).

[2]) Die Substanz enthielt 0,23% Asche, welche oben in Abzug gebracht ist.

säure ziemlich genau übereinstimmen; denn ein solches Gemenge enthält 56,54% C, 9,43% H und 10,35% N (dieser nahen Uebereinstimmung ist freilich desshalb keine grosse Beweiskraft beizulegen, weil es möglich ist, dass jene Substanz auch noch andere Amidosäuren einschloss).

Um die Phenylamidopropionsäure, deren Vorhandensein in der fraglichen Substanz vermuthet werden musste, zur Abscheidung zu bringen, versuchten wir zunächst die Anwendung desjenigen Verfahrens, vermittelst dessen wir die genannte Säure aus dem bei Zersetzung des Kürbisglobulins erhaltenen Stoffgemenge gewonnen hatten; wir lösten jene Substanz in heissem Wasser, erhitzten die Lösung mit Kupferoxydhydrat, zersetzten die so gewonnene Kupferverbindung, nach dem Abfiltriren und Auswaschen, durch Schwefelwasserstoff und suchten aus der so erhaltenen Amidosäuren-Lösung durch fraktionirte Fällung mittelst Kupferacetat Phenylamidopropionsäure zu isoliren. Wir gelangten aber auf solche Weise nicht zum Ziele. Die Ursache für diesen Misserfolg glauben wir errathen zu können. Wie früher mitgetheilt worden ist, gibt das bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser entstehende optisch inaktive Leucin eine durch Schwerlöslichkeit ausgezeichnete Kupferverbindung, welche sich — wenigstens aus reinen Lösungen — sofort ausscheidet, wenn man die heisse wässerige Leucinlösung mit Kupferacetat versetzt. Diese Kupferverbindung gleicht in ihrem Verhalten dem Kupfersalz der Phenylamidopropionsäure vermuthlich so sehr, dass die Trennung der beiden Amidosäuren auf dem besprochenen Wege zu schwierig ist.

Wir versuchten hierauf, die Phenylamidopropionsäure durch Ausfällen mittelst salpetersauren Quecksilberoxyds zu gewinnen. Die in den früheren Versuchen erhaltenen Kupferniederschläge, welche die Phenylamidopropionsäure — falls sie überhaupt vorhanden war — neben Leucin enthalten mussten, wurden durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die Lösungen mit salpetersaurem Quecksilberoxyd im Ueberschuss versetzt, die dadurch hervorgebrachten Niederschläge nach fast 8-tägigem Stehen abfiltrirt, dann in Wasser aufgelöst

und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirten Lösungen dunsteten wir im Wasserbade zur Trockene ein, nachdem sie zuvor durch Ammoniak alkalisch gemacht worden waren. Den Rückstand extrahirten wir in der Kälte mit Weingeist; das darin ungelöst Gebliebene lösten wir in Wasser und sättigten die Flüssigkeit in der Wärme mit Kupferoxydhydrat. Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, sodann durch Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Die so gewonnene Amidosäure gab bei der Analyse folgende Zahlen[1]):

1. 0,2004 gr. Substanz gaben 0,4528 gr. CO_2 und 0,1410 gr. H_2O.
2. 0,3219 gr. Substanz gaben 0,029605 gr. N (= 7,3 cbcm. Barytwasser c).

	Berechnet für $C_9H_{11}NO_2$	Gefunden:
C	65,45%	61,62%
H	6,67 «	7,81 «
N	8,45 «	9,19 «
O	19,43 «	—

Die Zusammensetzung der analysirten Substanz weicht, wie man sieht, von derjenigen der Phenylamidopropionsäure noch beträchtlich ab, liegt aber der Zusammensetzung eines Gemenges von 70 Theilen Phenylamidopropionsäure und 30 Theilen Leucin ziemlich nahe.

Eine dem Anschein nach weit reinere Substanz erhielten wir in folgender Weise: Das Filtrat vom ersten Quecksilber-Niederschlag wurde nach und nach mit Natriumcarbonat-Lösung versetzt, der dadurch hervorgebrachte Niederschlag nach einigen Tagen abfiltrirt und sodann durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die Lösung zur Trockene verdunstet, der Rückstand nach der Behandlung mit kaltem Weingeist in Wasser gelöst, die Lösung in der Wärme mit Kupferacetat versetzt. Die aus dem so erhaltenen Niederschlage abge-

[1]) Die für die Stickstoffbestimmung benutzte Substanz war, um noch eine Reinigung zu erzielen, wieder in die Kupferverbindung übergeführt und mittelst Schwefelwasserstoff wieder daraus abgeschieden worden.

schiedene, in kleinen Blättchen krystallisirte Amidosäure gab bei der Analyse folgende Zahlen[1]):

0,1872 gr. Substanz gaben 0,4461 gr. CO_2 und 0,1194 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_9H_{11}NO_2$	Gefunden:
C	65,45%	64,99%
H	6,67 «	7 08 «
N	8,45 «	—
O	19,43 «	—

Beim Erhitzen im Proberohr zeigte diese Substanz das in einem früheren Abschnitt dieser Abhandlung geschilderte Verhalten der Phenylamidopropionsäure.

Das Filtrat von dem Quecksilberniederschlage, aus welchem diese Substanz (von welcher wir nur eine ganz geringe Menge erhielten) gewonnen worden war, lieferte auf weiteren Zusatz von Natriumcarbonat einen Niederschlag, welcher dem Anschein nach den gleichen Körper, daneben aber mehr Leucin enthielt.

Zur Prüfung des Verhaltens, welches der aus dem Quecksilberniederschlag abgeschiedene Körper bei der trockenen Destillation zeigte, konnten wir nur eine relativ geringe Menge eines unreinen Präparats verwenden. Beim Erhitzen desselben in einer kleinen, aus einer schwer schmelzbaren Glasröhre hergestellten Retorte wurde Folgendes beobachtet: Die Substanz zersetzte sich unter Zusammenschmelzen und unter Entwickelung eines gasförmigen Körpers; es blieb ein brauner geschmolzener, beim Erkalten fest werdender Rückstand; im mittleren Theile der Glasröhre setzte sich ein Sublimat an, welches wahrscheinlich grösstentheils aus Leucin bestand; in die Vorlage ging ein flüchtiger Körper über, welcher beim Erkalten halb fest wurde. Derselbe löste sich in Salzsäure unter Aufbrausen, mit Hinterlassung eines geringen Rückstandes. Die filtrirte Lösung gab mit Platinchlorid einen blass-gelben Niederschlag, welcher in kochendem Wasser

[1]) Die Substanz enthielt, ebenso wie die für die vorhergehende Analyse verwendete, noch eine geringe Aschenmenge (0,8%). Die Resultate der C- und H-Bestimmungen sind auf aschenfreie Substanz umgerechnet worden.

sich auflöste; die Lösung lieferte beim Erkalten glänzende gelbe Krystallblättchen. Dieselben hinterliessen beim Glühen 30,47 % Pt (während das Platindoppelsalz des beim Erhitzen der Phenylamidopropionsäure entstehenden Phenyläthylamins 29,86 % Pt enthält[1]). Der im Retörtchen hinterbliebene Rückstand gab an kaltem Weingeist eine leicht lösliche braune Substanz ab; als das ungelöst Gebliebene mit kochendem Weingeist behandelt, die Lösung der Ruhe überlassen wurde, schied sich in feinen weissen Nädelchen eine Substanz ab, welche das früher beschriebene Verhalten des beim Erhitzen der Phenylamidopropionsäure entstehenden Phenyllactimids zeigte (soweit sich dies an einer nicht ganz reinen und der Quantität nach nicht bedeutenden Probe fesstellen liess).

Den Rest der aus dem Quecksilberniederschlag gewonnenen Substanz unterwarfen wir der Oxydation mittelst Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure. Während des Erhitzens trat der Geruch des Benzaldehyds auf. Aus der Flüssigkeit schied sich nach dem Erkalten eine Substanz aus, welche im Aussehen und Verhalten mit Benzoësäure übereinstimmte. Sie krystallisirte aus Wasser in kleinen Blättchen und Nadeln, welche im Capillarröhrchen bei 121° schmolzen[2]); in höherer Temperatur sublimirte sie. Die neutralisirte wässerige Lösung gab mit Eisenchlorid einen röthlich-gelben, mit Silbernitrat einen weissen, krystallinischen Niederschlag. Das Silbersalz wurde für eine Silberbestimmung verwendet; 0,137 gr. desselben hinterliessen beim Glühen 0,0643 gr. = 46,93 % Ag (während die Formel $C_7H_5AgO_2$ 47,16 % Ag verlangt).

Auf Grund der im Vorigen gemachten Mittheilungen dürfen wir es wohl für sehr wahrscheinlich erklären, dass die aus dem Quecksilberniederschlag abgeschiedene Substanz

---

[1]) 0,0968 gr. Substanz gaben 0,0295 gr. Pt. Die Genauigkeit der Bestimmung wird wohl etwas dadurch beeinträchtigt, dass dieselbe mit einer relativ geringen Substanzmenge ausgeführt werden musste.

[2]) Für ein Benzoësäure-Präparat unserer Sammlung wurde unter Benutzung des gleichen Thermometers, der gleiche Schmelzpunkt gefunden.

Phenylamidopropionsäure einschloss. Wir zweifeln kaum daran, dass es möglich sein wird, auf dem von uns eingeschlagenen Wege die genannte Amidosäure in einer zur ausführlichen Untersuchung hinreichenden Menge rein zu gewinnen, wenn man von grösseren Rohmaterialquantitäten ausgeht. Das Rohleucin, mit welchem wir experimentirten, war durch Verarbeitung von etwas mehr als 1 kg. Conglutin gewonnen worden. Hätten wir die drei bis vierfache Quantität zur Verfügung gehabt, so würden wir wahrscheinlich ein reines Produkt in genügender Menge gewinnen und den Nachweis der Phenylamidopropionsäure mit Sicherheit haben führen können.

Die genauere Untersuchung dieser Phenylamidopropionsäure würde insofern noch von besonderem Interesse gewesen sein, als dieselbe ohne Zweifel optisch inaktiv ist. Denn die von uns untersuchten Substanzgemenge, welche nach unserer Annahme Phenylamidopropionsäure und Leucin neben einander enthielten, zeigten in wässeriger Lösung keine optische Wirksamkeit.

Dass in derjenigen Portion des Rohleucins, aus welcher wir die im Vorigen beschriebenen Präparate gewonnen, auch Leucin sich vorfand, war leicht nachzuweisen. Die Filtrate, von den früher erwähnten Quecksilberniederschlägen wurden durch Schwefelwasserstoff von dem in Lösung befindlichen Quecksilber befreit, dann unter Zusatz von Ammoniak eingedunstet, der Rückstand mit kaltem Weingeist extrahirt, das ungelöst Gebliebene in heissem Wasser gelöst. Aus dieser Lösung schied sich in reichlicher Menge eine Substanz aus, welche — nachdem sie noch einmal umkrystallisirt worden war — vollkommen das Aussehen des reinen Leucins besass. Aus der Auflösung in heissem verdünntem Weingeist krystallisirte sie in atlasglänzenden farblosen Krystallblättern. Sie zeigte beim Erhitzen im Proberohr, sowie beim Behandeln der wässerigen Lösung mit Kupferacetat vollkommen das Verhalten des Leucins. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0,3008 gr. Substanz gaben 0,032038 gr. N (= 7,9 cbcm. Barytwasser c).

2. 0,3312 gr. Substanz gaben 0,035283 gr. N (= 8,70 cbcm. Barytwasser c).

	Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$	Gefunden: 1.	2.
N	10,69%	10,65%	10,65%

Man scheint unreines Leucin gut reinigen zu können, indem man die wässerige Lösung desselben mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt, den dadurch hervorgebrachten Niederschlag nach mehrtägigem Stehen entfernt und das Filtrat in der oben beschriebenen Weise behandelt.

Anhang.

Im Anschluss an die Untersuchungen, deren Ergebnisse im Vorigen mitgetheilt worden sind, haben wir auch einige Versuche mit Caseïn und mit Leim ausgeführt.

Eine Quantität von circa 1 kg. Caseïn wurde durch Erhitzen mit Salzsäure unter Zinnchlorür-Zusatz zersetzt, das dabei entstandene Rohleucin fraktionsweise in mehreren Portionen aufgesammelt. Aus der letzten Portion desselben versuchten wir in der früher beschriebenen Weise durch fraktionirte Ausfällung mit Kupferacetat Phenylamidopropionsäure zu gewinnen. Wir gelangten dabei aber nicht zum Ziele; keine der verschiedenen Fraktionen des Kupferniederschlages lieferte bei der Zerlegung eine Substanz, welche für reine oder annähernd reine Phenylamidopropionsäure hätte erklärt werden können. Bei der Oxydation dieser Substanzen mittelst Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure wurde aber Benzoësäure erhalten. Es ist demnach wahrscheinlich, dass jene Substanzen Phenylamidopropionsäure einschlossen, aber im Gemenge mit viel Leucin.

Vermuthlich entsteht bei der Zersetzung des Caseïns Phenylamidopropionsäure in geringerer Menge, als bei der Zersetzung der früher von uns untersuchten vegetabilischen Eiweisssubstanzen. In Uebereinstimmung mit den von Hlasiwetz und Habermann gemachten Angaben erhielten wir aus dem Caseïn viel Glutaminsäure.

Dass wir auch den Leim in den Bereich unserer Untersuchung zogen, wurde dadurch veranlasst, dass derselbe nach den in den Fachzeitschriften sich findenden Angaben[1]), bei der Oxydation Benzoësäure liefert. Wir zersetzten ca. 1 kg. Leim (reinste Gelatine des Handels) durch Erhitzen mit Salzsäure unter Zinnchlorür-Zusatz. Die Zersetzungsflüssigkeit lieferte, nachdem sie von der Salzsäure befreit und sodann stark concentrirt worden war, zuerst eine dem Rohleucin gleichende Substanz; aus der davon abfiltrirten, ziemlich dickflüssigen Mutterlauge erhielten wir Ausscheidungen, welche — nachdem sie durch Umkrystallisiren gereinigt worden waren — das Aussehen des Glycocolls zeigten. Das Rohleucin wurde für sich umkrystallisirt, das dabei resultirende Produkt in drei Fraktionen aufgesammelt. Eine Probe der letzten Fraktion wurde der Oxydation durch Kaliumbichromat und verdünnte Schwefelsäure unterworfen; dabei entstand Benzoësäure (während des Erhitzens trat der Geruch des Benzaldehyds auf).

Wir lösten nun diese Fraktion in Wasser und sättigten diese Lösung mit Kupferoxydhydrat. Die dabei ausgeschiedene Kupferverbindung wurde nach dem Abfiltriren und Auswaschen durch Schwefelwasserstoff zerlegt, das so gewonnene Amidosäurengemenge der Elementar-Analyse unterworfen. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

1. 0,222 gr. Substanz gaben 0,460 gr. CO_2 und 0,181 gr. H_2O.
2. 0,2244 gr. Substanz gaben 0,4647 gr. CO_2 und 0,1786 gr. H_2O.

			Mittel:
C	56,50%	56,47%	56,49%
H	9,11 «	8,86 «	8,94 «
N	—	—	—
O	—	—	—

Die analysirte Substanz enthielt also mehr Kohlenstoff, weniger Wasserstoff als Leucin; in derselben musste demnach neben Leucin (welches ohne Zweifel vorhanden war) noch eine Amidosäure von anderer Zusammensetzung oder ein Gemenge mehrerer solcher Amidosäuren sich vorfinden.

[1]) Nach Guckelberger: Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 64, S. 39 und nach Schlieper: ebendaselbst, Bd. 59, S. 1.

Auf ein Gemisch von Leucin und Phenylamidopropionsäure passen die obigen Zahlen nicht gut; falls also Phenylamidopropionsäure sich vorfand (was nach dem Ergebniss des Oxydationsversuchs wahrscheinlich ist), so war wohl neben dieser noch eine andere Amidosäure dem Leucin beigemengt. Eine wässerige Lösung der fraglichen Substanz gab auf Zusatz von salpetersaurem Quecksilberoxyd einen Niederschlag.

Die ersten Fraktionen des Rohleucins (welche bei der Oxydation nur sehr wenig Benzoësäure gaben[1]) lieferten bei mehrmaligem Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem Weingeist ein Produkt, welches im Aussehen und Verhalten mit reinem Leucin übereinstimmte.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse lassen es möglich erscheinen, dass bei der Zersetzung des Leims etwas Phenylamidopropionsäure entsteht; jedenfalls ist aber die Menge derselben sehr gering und man müsste, um sie gewinnen zu können, ohne Zweifel eine grosse Quantität von Rohmaterial in Arbeit nehmen.

Bei Untersuchung der aus dem Leim gewonnenen Produkte hatte Herr Dr. L. Weitz die Güte sich zu betheiligen; von ihm sind auch die obigen Elementaranalysen ausgeführt worden.

Rückblick auf die Resultate.

Vergleichen wir die Ergebnisse unserer Arbeit mit den Resultaten, welche Ritthausen, sowie Hlasiwetz und Habermann bei der Zersetzung von Eiweisssubstanzen durch Mineralsäuren (verdünnte Schwefelsäure und Salzsäure) erhielten, so zeigt sich in einem Punkte eine Differenz: Während die genannten Forscher aus dem bei der Zersetzung erhaltenen Stoffgemenge keine anderen Amidosäuren zu isoliren vermochten als Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin

[1]) Während des Erhitzens trat der Geruch des Benzaldehyds auf; aus der Zersetzungsflüssigkeit schied sich in dem einen Falle nur eine geringe Menge von Benzoësäure, in dem anderen Falle gar nichts aus.

und Tyrosin, haben wir neben letzteren auch noch Phenylamidopropionsäure erhalten (welche allerdings bis jetzt nur unter den Zersetzungsprodukten des Kürbisglobulins mit völliger Sicherheit nachgewiesen worden ist). Diese Differenz ist jedoch nicht schwer zu erklären. Wenn man das Rohleucin, in welchem die Phenylamidopropionsäure als Gemengtheil enthalten ist, oft genug umkrystallisirt, so wird die letztere, deren Quantität nur gering ist, wohl in allen Fällen vollständig in die Mutterlaugen übergehen — es erklärt sich daher leicht, dass sie früher der Beobachtung entgangen ist. Auch uns würde die Auffindung dieses Körpers unter den Zersetzungsprodukten der Eiweissstoffe kaum gelungen sein, wenn wir denselben nicht zuvor aus Keimpflanzen gewonnen und in Folge davon seine Eigenschaften gekannt hätten.

Eine ähnliche Differenz scheint zwischen den Ergebnissen unserer Untersuchungen und denjenigen der Schützenberger'schen Arbeiten zu bestehen. Wir haben nachgewiesen, dass unter den bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser entstehenden Produkten eine Amidosäure sich findet, welche in ihrer Zusammensetzung vom Leucin und dessen Homologen weit abweicht und mehr Kohlenstoff enthält, als das Tyrosin; dass diese Amidosäure Phenylamidopropionsäure ist, wurde zwar nicht mit völliger Sicherheit festgestellt, es darf aber auf Grund der von uns gemachten Beobachtungen doch wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden. Unter den Stoffen, welche Schützenberger als Produkte der Eiweisszersetzung namhaft macht, findet sich keiner, welcher seiner Zusammensetzung und seinen Eigenschaften nach mit Phenylamidopropionsäure übereinstimmt.

Es ist indessen nicht unwahrscheinlich, dass eine Substanz, welche Schützenberger unter Händen hatte, Phenylamidopropionsäure einschloss. Unter den Zersetzungsprodukten des Albumins fand der genannte Forscher einen Körper auf, welchem er den Namen Tyroleucin und die Formel $C_7 H_{11} NO_2$ oder $C_{14} H_{22} N_2 O_4$ gegeben hat. Dieser Körper liefert, allem Anschein nach, bei der trockenen Destil-

lation die gleichen Zersetzungsprodukte wie Phenylamidopropionsäure, neben denselben aber auch noch Amidovaleriansäure[1]). Schützenberger[2]) hat nun die Vermuthung ausgesprochen, dass sein Tyroleucin eine Verbindung von Amidovaleriansäure mit einem nach der Formel $C_9H_{11}NO_2$ zusammengesetzter Körper sei. Dass diese Vermuthung richtig[3]) und dass der zuletzt genannte Körper Phenylamidopropionsäure ist, dürfte wohl nicht unwahrscheinlich sein.

Dass auch die Schützenberger'schen Leuceïne möglicherweise Phenylamidopropionsäure einschliessen, hat der Verfasser schon in einer früheren Abhandlung ausgesprochen[4]).

---

[1]) Der Verfasser hat darauf schon früher (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 14, S. 1791) aufmerksam gemacht. Nach den Angaben Schützenberger's liefert das Tyroleucin beim Erhitzen auf ca. 250° unter Abspaltung von Wasser und Kohlensäure einen gelben geschmolzenen Rückstand, ein weisses aus Amidovaleriansäure bestehendes Sublimat, und das Carbonat einer flüchtigen Base, welche nach der Formel $C_8H_{11}N$ zusammengesetzt ist und ein krystallinisches Platindoppelsalz liefert.

[2]) Annales de chimie et de physique, T. 16, p. 347.

[3]) Doch bleibt es vielleicht eine discutirbare Frage, ob es sich hier um eine Verbindung oder ein Gemenge handelt.

[4]) Tageblatt der 55. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Eisenach, 1882, S. 168.

In seiner ersten Mittheilung über das Tyroleucin (Comptes rendus, T. 84, p. 124, im Auszug Chemisches Centralblatt 1877, S. 181) giebt Schützenberger an, dass man das Leuceïn $C_6H_{11}NO_2$ als eine Verbindung von Tyroleucin mit Amidovaleriansäure ansehen könne ($C_{14}H_{22}N_2O_4 + 2C_5H_{11}NO_2 = 4C_6H_{11}NO_2$); denn es verhalte sich beim Erhitzen ähnlich dem Tyroleucin, nur liefere es bei der Zersetzung mehr Amidovaleriansäure. Wenn nun Tyroleucin aus Amidovaleriansäure und Phenylamidopropionsäure besteht, so würde gemäss obiger Annahme auch das Leucin $C_6H_{11}NO_2$ diese Bestandtheile enthalten. Es würden in der That 3 Mol. Amidovaleriansäure und 1 Mol. Phenylamidopropionsäure ein Gemenge geben, welches die Elementar-Zusammensetzung eines Schützenberger'schen Leuceins besitzt ($3C^5H^{11}NO^2 + C^9H^{11}NO^2 = 4C^6H^{11}NO^2$). Es ist übrigens darauf aufmerksam zu machen, dass die von Schützenberger für die Zusammensetzung der Leuceïne gefundenen Zahlen z. Th. ziemlich stark von denjenigen abweichen, welche den von ihm gewählten Formeln entsprechen.

Vergleicht man die Resultate, welche wir bei der Spaltung des Conglutins durch Salzsäure erhielten, mit den bei der Spaltung des gleichen Eiweissstoffes durch Barytwasser von uns erhaltenen, so zeigt sich eine bemerkenswerthe Differenz: Im ersteren Falle entstanden optisch wirksame, im zweiten Falle optisch inaktive Amidosäuren. Auch in Bezug auf den Grad der Löslichkeit im Wasser zeigten sich Differenzen zwischen den gleichnamigen Produkten.

Aus dem bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser erhaltenen Stoffgemenge vermochten wir Asparaginsäure nicht zu gewinnen, während letztere bei der Zersetzung der Eiweisssubstanzen durch Säuren stets erhalten worden ist und sich nach Schützenberger auch unter den Produkten vorfindet, welche bei der Spaltung des Albumins durch Barytwasser entstehen. Diesem Umstande können wir bis auf Weiteres kein grosses Gewicht beilegen; denn es ist möglich, dass wir bei Anwendung eines anderen Abscheidungsverfahrens die fragliche Amidosäure hätten nachweisen können[1]). Andere Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der bei Einwirkung von Salzsäure einerseits und von Barytwasser anderseits entstehenden Amidosäuren-Gemenge haben wir nicht zu constatiren vermocht: doch möchten wir nicht behaupten, dass es uns gelungen sei, alle Bestandtheile dieser Gemenge aufzufinden.

Wäre es möglich, die Quantitäten der einzelnen, bei der Zersetzung der Eiweisssubstanzen resultirenden Produkte einigermassen genau zu bestimmen, so würde es von Wichtigkeit sein, in dieser Hinsicht die Spaltung eines Eiweissstoffs durch Salzsäure mit derjenigen durch Barytwasser zu vergleichen. Leider haften den für die Trennung der verschiedenen Amidosäuren verwendbaren Methoden so bedeutende Mängel an, dass die Quantitäts-Angaben nur sehr beschränkten Werth

---

[1]) Schützenberger hat die Asparaginsäure neben der Glutaminsäure in dem durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebrachten Niederschlag vorgefunden. Es ist nicht unmöglich, dass beim Erhitzen mit Barytwasser unter Druck ein Theil der Asparaginsäure zersetzt wird.

beanspruchen können. Trotzdem ist es vielleicht von einigem Interesse, dass die Quantitäten von Tyrosin und von Rohleucin, welche wir bei der Spaltung des Conglutins durch Salzsäure und durch Barytwasser erhielten, nicht weit von einander abwichen und dass in beiden Fällen Glutaminsäure in sehr beträchtlicher Menge sich gebildet hatte.

Zur Weyl'schen Kreatininreaktion.

Von

Prof. E. Salkowski in Berlin.

(Der Redaktion zugegangen am 15. Oktober 1884.)

1. Vor einiger Zeit theilte ich mit, dass die Weyl'sche Reaction mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge einer Erweiterung fähig ist. Ich sagte[1]: «Säuert man indessen die gelbgewordene Lösung mit Essigsäure an und erhitzt, so färbt sie sich, wie ich bemerkt habe, zuerst grünlich, dann mehr und mehr blau.»

Dem gegenüber äussert sich Herr Le Nobel[2]) folgendermassen:

«Die Behauptung Salkowski's, dass bei der Kreatininreaktion die gelbe Farbe durch Kochen mit Eisessig grünblau wird, ist, wie aus dem oben Erörterten hervorgeht, wohl auf einen gleichzeitigen Gehalt des Harns an Aceton zu beziehen».

In meiner kurzen Mittheilung kommt nun das Wort «Harn» überhaupt nicht vor. Meine Angaben — die ich durchaus aufrecht erhalte, sie scheinen auch allgemein acceptirt zu sein — beziehen sich auf Kreatinin und es ist selbstverständlich, dass denselben Versuche mit Kreatininlösungen zu Grunde liegen, nicht aber mit Harn. Ueber das Verhalten des Harns zu dieser Reaktion habe ich nie etwas ausgesagt.

Wie es kommt, dass Herr Le Nobel auch bei reinem Kreatinin die Reaktion nicht in der von mir beschriebenen Weise erhalten hat, S. 11, l. cit. heisst es: — «die rubinrothe

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 133.

[2]) Archiv für experimentelle Pathologie, Bd. XVIII, S. 9.

sowohl, wie die strohgelbe Farbe gehen bei Aldehyden beim Erhitzen mit Säuren in eine grünblaue über, beim Kreatinin nicht», — weiss ich nicht; vielleicht hat Le Nobel nicht stark genug erhitzt.

Uebrigens steht eine andere Stelle in der Abhandlung von Le Nobel damit in einem mir unerklärlichen Widerspruch. Seite 9 heisst es nämlich: «Schüttelt man jedoch den Harn mit acetonfreiem Aether oder Chloroform aus, so zeigt das Aether-(Chloroform-)Extrakt die reine Acetonreaktion und der acetonfreie Harn die Kreatininreaktion (Grünwerden durch Essigsäure)».

2. In einem vom Verfasser mir freundlichst übersendeten Separat-Abdruck von Krukenberg aus den Würzburger physiologisch-medicinischen Verhandlungen 1884 finde ich S. 5 in Bezug auf dieselbe Kreatininreaktion die Bemerkung, dass die grünliche Färbung auf der Bildung von Berliner Blau beruht. Ich stimme Krukenberg vollständig bei, auch mir ist dieses schon lange bekannt. Sehr viel reichlicher bildet sich Berliner Blau bei der gleichen Reaktion in Anwendung auf Indol nach Legal's Angabe, wenn man nach Zusatz der Reagentien mit Salzsäure ansäuert.

Ist anzunehmen, dass der normale menschliche Harn Cystin oder diesem nahestehende Verbindungen enthalte?

Von

Dr. Stadthagen, pr. Arzt.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 3. November 1884.)

Gelegentlich der Analyse eines Cystinharns, über welche ich demnächst berichten werde, versuchte ich es, mich darüber zu informiren, ob auch im normalen Harn Cystin oder ihm nahestehende Verbindungen enthalten seien, und welcher Antheil an dem Schwefelgehalt des Harns ihnen eventuell zukommen möchte. Es ist ja bekannt, dass der Harn neben der präformirten und gebundenen Schwefelsäure — dem sauren Schwefel — noch schwefelhaltige organische Körper in nicht unbeträchtlicher Menge enthalte. Nach einer von Salkowski angestellten Versuchsreihe beträgt dieser — von ihm neutral genannte Schwefel — durchschnittlich 0,158 gr. pro die — etwa $^1/_5$ der Gesammtschwefelsäure, die ihm als Mittel 0,807 gr. ergab[1]). (Eine Anzahl eigener Bestimmungen haben mir etwas geringere Werthe für den neutralen Schwefel ergeben.) Munk[2]) und Gscheidlen[3]) haben nun Rhodan-Verbindungen im menschlichen Harn nachgewiesen, — welche Munk auf 0,11, Gscheidlen zu 0,0314 NaCNS in 1 Liter

[1]) Salkowski und Leube: Die Lehre vom Harn, S. 162.
[2]) Virchow's Archiv, Bd. 69, S. 354.
[3]) Pflüger's Archiv, Bd. 14, S. 401.

Harn berechnet. — Die Menge des darin enthaltenen Schwefels repräsentirt jedoch, wenn wir auch Munk's Zahlen unserer Berechnung zu Grunde legen, nur etwas über ein Dritttheil des neutralen Schwefels. Weiter liegt eine Angabe von Salkowski[1]) vor, dass er aus normalem Harn geringe Mengen einer schwefel- und stickstoffhaltigen Säure isolirt habe, welche die H_2S-Reaktion nicht liefere. Salkowski vermuthet, dass sie mit der Taurocarbaminsäure identisch sei; doch war die Ausbeute für eine Analyse zu gering. Immerhin bleibt ein grosser Theil des neutralen Schwefels noch unerklärt. Der Gedanke liegt jedenfalls sehr nahe. dieses Deficit mit dem durch Schwefelreichthum ausgezeichneten Cystin in Zusammenhang zu bringen. In der That wird auch von verschiedenen Autoren, so z. B. Salkowski[2]), an dieser Vermuthung festgehalten. Ich will die Gründe, welche für die Richtigkeit derselben sprechen, nicht weiter erörtern, und nur erwähnen, dass u. A. Mauthner auch für die von Haas entdeckte Eigenschaft des normalen Harns, die Polarisationsebene links zu drehen, auf das stark linksdrehende Cystin seine Vermuthung lenkt[3]). Auf der anderen Seite wird von Külz auf Grund seiner Untersuchungen das Vorkommen von Cystin im normalen Menschen- (und Rinder-) Harn direkt geleugnet[4]). Dass Cystin selbst in irgend grösserer Menge im menschlichen Harn enthalten sein könne, ist bei seiner ausserordentlich geringen Löslichkeit in diesem wohl von vornherein als ausgeschlossen zu betrachten. Sicher würden wir sonst häufiger im Sedimente dem Cystin begegnen. Dagegen wäre es ja denkbar, dass dem Cystin nahestehende Verbindungen, welche eine grössere Löslichkeit im Harn besitzen, in diesem vorkämen.

Ehe ich hierauf eingehe, sei es mir gestattet, ein paar Bemerkungen vorauszuschicken:

Wie allgemein bekannt, wird beim Kochen des Cystins

---

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 58, S. 501.

[2]) Salkowski und Leube: Die Lehre vom Harn, S. 161.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 225.

[4]) Marburger Sitzungsberichte, 1875, S. 77.

mit wässerigen fixen Alkalien Schwefelmetall gebildet. Diese Abspaltung des Schwefels geschieht schon nach kurzer Zeit glatt und vollständig. Hat man vor dem Kochen mit Kalilauge einen Tropfen essigsauren Bleis zugesetzt, so kann man sich leicht überzeugen, — wenn man das Filtrat vom Schwefelblei eindampft und mit Soda und Salpeter schmilzt, — dass aller Schwefel in Schwefelmetall umgewandelt sei. Wie das Cystin selbst, so werden auch viele dem Cystin nahestehenden Körper dieselbe Reaktion liefern, d. h. solche Verbindungen, in welchen der Cystinschwefel eine wesentliche Veränderung, sei es Oxydation, sei es Umlagerung im Molekül nicht erfahren hat. Nach Baumann ist die Constitutionsformel des Cystins:

$$CH_3 . C \begin{matrix} NH_2 \\ S \end{matrix} - CO\text{-}OH$$
$$|$$
$$CH_3 . C \begin{matrix} S \\ NH_2 \end{matrix} - CO\text{-}OH$$ [1].

Es würde also z. B. von dem entsprechenden Monosulfid und Mercaptan (Cysteïn «Baumann»), ebenso von der Thiomilchsäure, — deren Formel aus der des Cysteïns durch Ersetzung der NH_2-Gruppe durch 1 H-Atom erhalten wird — u. s. w., das gleiche Verhalten zu erwarten sein. Wohlgemerkt ist hier, wie im Folgenden, nur von freien, nicht in Verbindungen enthaltenen Cystinkörpern die Rede. Substituirte Cystine werden wahrscheinlich je nach der Art der Verbindung sich verschieden verhalten. Bisher liegt nur die Angabe von Baumann und Preusse[2]) vor, dass das Bromphenylcysteïn bei der erwähnten Behandlung Bromphenylmercaptan in annähernd theoretischen Verhältnissen liefere.

Bei der Aufsuchung des (freien) Cystins oder ihm nahestehender Verbindungen, liegt es nahe, sich jenes obenerwähnten Verhaltens, der Bildung von Schwefelblei, beim Kochen mit Kalilauge und Bleilösungen zur Orientirung zu bedienen.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 302.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 322.

Ich habe nun Niederschläge aus sehr grossen Mengen normalen Harns mit den verschiedensten Reagentien, — als Bleiacetat, basisches Bleiacetat, — allein oder mit Ammoniak, — Phosphorwolframsäure, Sublimat, Argent. nitric. etc. hergestellt, ich habe, mit dem erwähnten Leitfaden an der Hand, diese Niederschläge, sowie ihre Filtrate, ebenso die verschiedensten Auszüge mit Alkohol, Aether, Amylalkohol, Chloroform etc. von sauer und alkalisch gemachten Harnrückständen untersucht, ohne zu einem positiven Ergebniss zu gelangen.

Beiläufig sei bemerkt, dass ich auch in einem Cystinharne nach einer schwefelhaltigen Säure gesucht habe, die zu dem Cystin in ähnlichen Beziehungen stehen möchte wie die von Jaffe und Baumann dargestellte Phenylmercaptursäure zum Phenylcysteïn. (Beim Kochen der Säure mit verdünnter Schwefelsäure wird Phenylcysteïn und Essigsäure gebildet.)

Ich wählte zur Aufsuchung das Verfahren, welches Jaffe zur Darstellung der Bromphenylmercaptursäure benutzt hatte[1]), — habe aber keinen solchen Körper gefunden. Angesichts dieser Misserfolge versuchte ich es, mir auf indirektem Wege Aufklärung zu verschaffen.

Wie oben erwähnt, wird der Schwefel des Cystins beim Kochen mit Kalilauge quantitativ als Schwefelalkali erhalten. Sind also Cystin oder solche Körper, welche wir oben als ihm nahestehende bezeichnet haben, im normalen Harn enthalten, so muss beim Kochen desselben mit fixen Alkalien die entsprechende Menge Schwefelmetall gebildet werden. Es war also die Aufgabe, dieses Letztere zu bestimmen. War das Resultat ganz negativ, so war damit auch erwiesen, dass die uns interessirenden Körper nicht vorhanden seien; im anderen Falle konnte das neugebildete Schwefelmetall irgend anderen Körpern seine Entstehung verdanken, doch liess

---

[1]) Der eingedampfte Harn wird mit Alkohol extrahirt, die eingeengte alkoholische Lösung mit Schwefelsäure stark angesäuert und, mit Aether ausgeschüttelt (Baumann und Preusse: Diese Zeitschrift Bd. V, S. 312).

sich wenigstens durch quantitative Bestimmung des darin enthaltenen Schwefels angeben, welchen Antheil die Cystinkörper in maximo an dem Schwefelgehalt des Harns haben können.

Da der menschliche Harn sowohl Sulfate als Rhodanverbindungen und Taurinderivate enthält, so kommen für das gleich zu erörternde Verfahren folgende Thatsachen in Betracht.

Verdünnte Schwefelsäure entwickelt mit metallischem Zink weder in der Kälte, noch beim Erwärmen H_2S (auch nicht bei Gegenwart organischer Substanz).

Blei- und Zinksalze fällen Rhodan aus seinen Lösungen; die Niederschläge lösen sich schon in der Kälte, schneller noch beim Erwärmen in überschüssiger Essigsäure oder Natronlauge (besonders leicht in ersterer). Der Schwefel des Rhodan wird beim Kochen mit Kalilauge nicht angegriffen; (erst bei höheren Temperaturen wird Schwefelalkali gebildet). Dagegen entwickelt, wie bekannt, Rhodan beim Digeriren mit Zink und Salzsäure H_2S.

Taurin gibt weder die H_2S-Reaction, noch wird sein Schwefel durch Kochen mit Natronlauge abgespalten.

Für die Bestimmung verfuhr ich in folgender Weise: 1—2 Liter Harn werden mit Kalilauge stark alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade zur Syrupconsistenz gedampft; nach Zusatz einiger Tropfen einer alkalischen Bleihydratlösung durch etwa $^1/_4$ Stunde auf freiem Feuer gekocht. Von Zeit zu Zeit wird zweckmässig das verdampfende Wasser ersetzt, um ein Glühen an den Rändern zu vermeiden (damit nicht auch Rhodan zerlegt werde). Dann wird, um das etwa neugebildete Schwefelblei vom Rhodanblei zu trennen, die alkalische Lösung mit verdünnter Essigsäure übersättigt, erwärmt, die Essigsäure ohne Aufrühren des Niederschlages von diesem durch ein Filter abgegossen und diese Decantation nochmals wiederholt. Jetzt wird der Niederschlag auf das Filter gebracht und auf diesem mit Essigsäure gewaschen, bis diese nicht mehr bleihaltig abfliesst. Der Niederschlag ist dann frei von Rhodanverbindungen. Nun wird er mitsammt dem Filter und etwas metallischem Zink in einen

grossen Kolben gethan, der mit einem dreifach durchbohrten Stopfen verschlossen ist, und in Wasser suspendirt. Hinter dem Kolben befinden sich 1 oder zweckmässiger 2 kleine Kölbchen mit gelöstem Silbernitrat, während vor ihm ein mit verdünnter Natronlauge gefülltes Gefäss liegt (um die durchstreichende Luft vor ihrem Eintritt in den Kolben vom H_2S zu befreien). Die dritte Durchbohrung des Stopfens ist zur Aufnahme eines kleinen mit Salzsäure gefüllten Scheidetrichters bestimmt. Im Moment, wo die Operation beginnen soll, lässt man die Salzsäure in den Kolben zu dem Niederschlage einfliessen. Zweckmässig ist es, während der ganzen Dauer der H_2S-Entwickelung den Kolben auf dem Wasserbade zu erwärmen. Zum Schlusse der Operation wird Luft in mässig starkem Strome durch den ganzen Apparat gesaugt.

Ein grosser Uebelstand ist hierbei, dass es sehr schwierig ist, vollkommen schwefelfreies Zink zu erhalten. Jedenfalls muss man durch sorgfältige Vorversuche sich von der Reinheit des Metalls überzeugen. Ich habe es desshalb später vorgezogen, statt der Bleilösung eine Lösung von Zinkhydrat in Natronlauge zu verwenden. Nach dem Kochen des Harns mit dieser Lösung wird etwas Salmiaklösung hinzugefügt, 24 Stunden stehen gelassen. Zur Entfernung des Rhodanzinks aus dem gebildeten Niederschlage wird letzterer mit Natronlauge und etwas Salmiaklösung gewaschen, sonst wie oben verfahren. Da das Auswaschen des Schwefelzinks aber in dieser Weise etwas schwierig gelingt, habe ich schliesslich auch zum Auflösen des Rhodanzinks verdünnte Essigsäure verwendet. Schwefelzink ist in verdünnter Essigsäure ja nahezu unlöslich. Zur H_2S-Entwickelung aus den Zinkniederschlägen wird statt der Salzsäure zweckmässig Schwefelsäure genommen.

Regelmässig bildet sich in der salpetersauren Silberlösung ein dunkler Niederschlag. Dieser wird auf aschefreiem Filter gesammelt, mit Soda und Salpeter geschmolzen, die Schmelze in Wasser gelöst, filtrirt und im Filtrat mit Baryumchlorid auf Schwefelsäure geprüft. Das Resultat der erwähnten Methoden war ein durchaus übereinstimmendes.

Während in zwei Fällen das Endergebniss ein ganz negatives war, erhielt ich in zehn anderen 1—4 mllgr. im Durchschnitt aus allen zwölf Proben 2 mllgr. $BaSO_4$ pro Liter. Die hieraus berechnete Menge Schwefels würde also weniger als 0,3 mllgr. pro Liter betragen. Es ist nicht ausgeschlossen, dass diese Spuren Schwefel von Albuminstoffen herrühren. Wie dem aber auch sein mag, Cystin oder ihm nahestehende Körper sind nach obigem Ergebniss im normalen Harn entweder gar nicht vorhanden, oder doch nur in äusserst minimaler Menge. Keinesfalls ist ihre Anwesenheit ausreichend, das neben dem Rhodan (und Taurin) noch vorhandene Deficit des neutralen Schwefels zu decken[1]).

Auch der folgende Versuch spricht, wie mir scheint, gegen die Anwesenheit von cystinartigen Körpern im normalen Harn.

Wie Sertoli, Schönbein u. A. beobachtet haben, entwickelt der Harn mit Zink und Salzsäure neben Wasserstoff Schwefelwasserstoff. Munk und Gscheidlen haben nachgewiesen, dass an dieser Reaktion das Rhodan betheiligt sei.

Nach Dewar und Gamgee gibt auch Cystin die H_2S-Reaktion. Külz[2]) hat diese Angabe bestätigt, Baumann sie aber dahin berichtigt, dass nur ein sehr kleiner Theil des Cystinschwefels durch den nascirenden Wasserstoff in H_2S verwandelt werde, der grössere Theil des Cystins dagegen in einen neuen basischen Körper $C_6H_{14}N_2S_2O_4$ (Cysteïn) umgewandelt werde, dessen wässerige Lösung wieder in Cystin übergeht[3]). Immerhin bleibt die Entwickelung von Schwefelwasserstoff deutlich nachweisbar, auch wenn man

---

[1]) Wie bekannt, tritt beim Kochen des Harns mit Natronlauge und basisch salpetersaurem Wismuthoxyd in jedem normalen Harn, wofern man nur lange genug erhitzt, Schwärzung ein, die in einzelnen Harnen sehr intensiv sein kann. Diese Schwärzung beruht nach dem Gesagten nicht auf Bildung von Schwefelwismuth. Ein Theil dieser schwarzen Masse scheint aus organischen Verbindungen zu bestehen.

[2]) Külz: l. cit., S. 74.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 300.

nur ganz minimale Mengen Cystin verwendet. Jedenfalls müsste also, wenn (freies) Cystin oder die oben erwähnten ihm analog zusammengesetzten Körper vorhanden wären, der Harn auch nach Entfernung des Rhodans noch die H_2S-Reaktion geben. Zur Trennung des Cystins vom Rhodan kann man sich des salpetersauren Silbers bedienen. Dieses fällt, wie bekannt, Rhodan aus salpetersaurer Lösung, während Cystin zwar gefällt, sofort aber wieder aufgelöst wird. Ich verfuhr also in folgender Weise:

Etwa zwei Liter Harn werden zur dicken Syrupconsistenz eingedampft, mit Salpetersäure angesäuert, Chloride und Rhodan durch salpetersaure Silberlösung gefällt, vom Niederschlage abfiltrirt.

Das Filtrat wird in einen grossen Kolben gebracht, durch kohlensaures Natron neutralisirt, mit Wasser auf ca. 4 Liter verdünnt und (reines) Zink und Salzsäure hinzugefügt. Um zu starkes Erwärmen beim Zusatz von HCl zu vermeiden, wird während desselben der Kolben durch Eiswassser gekühlt. Die sich in dem Kolben entwickelnden Gase streichen durch eine enge Oeffnung des Halses, in welcher ein mit essigsaurem Blei getränkter Streifen Fliesspapier liegt. Die stark verdünnte Salpetersäure stört durch ihre Anwesenheit die H_2S-Reaktion in keiner Weise; wohl aber misslingt diese bei Gegenwart concentrirter Salpetersäure. Es ist desshalb nöthig, wie erwähnt, die Säure abzustumpfen und zu verdünnen.

Weder sofort noch nach drei Stunden hat sich eine Spur von Schwefelblei gebildet. Der Kolben wird jetzt auf dem Wasserbade leicht erwärmt; nach weiteren drei Stunden zeigt sich dasselbe negative Resultat.

Zur Controlle wird jetzt etwas unveränderter Harn zugesetzt und sofort entwickelt sich H_2S.

Es scheint also, dass neben dem Rhodan kein anderer Körper im Harn vorhanden sei, welcher die H_2S-Reaktion liefert, also — glaube ich folgern zu dürfen — auch kein (nicht substituirtes) Cystin.

Nach dem Gesagten ist es auch nicht wahrscheinlich, dass der noch ungekannte linksdrehende Körper von Haas mit dem Cystin in Zusammenhange stehe[1]).

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Dr. Kossel, dem Leiter der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts, sowie Herrn Dr. Herter, in dessen Privatlaboratorium ich einen Theil der Versuche gemacht habe; meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

---

1) Beiläufig sei bemerkt, dass dieser Körper vollständig in den alkoholischen Harnauszug übergeht, während Cystin in Alkohol unlöslich ist.

Ueber das Nuclein der Weinkerne. Reifestudien an Weinkernen.

Von

Dr. Carl Amthor.

(Der Redaktion zugegangen am 5. November 1884.)

Aehnlich den Angaben Kossel's[1]) wurde das Nuclein der Weinkerne auf folgende Weise dargestellt:

«Frische, reife Weinkerne wurden mit etwas Wasser zu einem feinen Brei zerstossen, derselbe auf ein Tuch gebracht, nach dem Abtropfen mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen, hierauf mit einer Lösung von 5 gr. Natronhydrat im Liter Wasser kurze Zeit geschüttelt und sofort in verdünnte Salzsäure filtrirt unter öfterer Erneuerung des Filters. Die während der ersten 10 Minuten erhaltenen Niederschläge wurden weiter verarbeitet. Dieselben wurden mit destillirtem Wasser, dem einige Tropfen Salzsäure zugefügt waren, gut ausgewaschen, hierauf mehrmals mit Alkohol ausgekocht und ausgewaschen bis zum Verschwinden der sauren Reaktion, zuletzt noch mehrmals mit heissem Aether gewaschen. Nach freiwilligem Abdunsten des letzteren zerfällt das Nuclein zu einem grau-weissen Pulver, welches beim Trocknen bei 105° bedeutend nachdunkelt.

Die Bestimmung von Phosphor[2]) und Schwefel des bei 105° getrockneten Präparates ergab folgende Werthe:

1. 1,1456 = 0,0373 $Mg^2O^7P^2$ = 0,87% P
2. 1,1982 = 0,0390 $Mg^2O^7P^2$ = 0,90% P, im Mittel 0,89% Phosphor.

1. 2,2965 = 0,0590 $BaSO_4$ = 0,35% S
2. 0,9564 = 0,0256 $BaSO_4$ = 0,36% S.

---

1) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. IV, S. 284.

2) Der Phosphor wurde stets nach der Molybdän-Methode bestimmt und als $Mg^2O^7P^2$ gewogen.

Das Nuclein der Weinkerne zersetzt sich in alkalischer Lösung rasch. Ein Präparat, welches zu lang filtrirt hatte, enthielt nur noch 0,57 % P. Beim Erhitzen entwickelt es den beim Verbrennen stickstoffhaltiger Körper entstehenden Geruch und hinterlässt beim Glühen unter Verlust von Phosphor (ein Präparat enthielt nach der Veraschung 18,6% P weniger, als nach dem Zerstören mit Soda und Salpeter) geringe Mengen einer sauer reagenden Asche. Es wird durch siedendes Wasser unter Abspalten von Phosphorsäure zerlegt.

1,0364 gr. Nuclein wurden mit Wasser im zugeschmolzenen Rohr 50 Stunden im Wasserbad erhitzt. Das Ungelöste betrug:

0,8115 = 78,3%.

Das Filtrat, eingedampft und bei 105° getrocknet, gab:

0,1722 = 16,61%.

Verschwunden sind:

5,08%.

Es hat sich also entweder Wasser abgespalten oder ein flüchtiger Körper gebildet.

Es wurden jetzt 7,8742 Nuclein auf dieselbe Weise im zugeschmolzenen Rohre erhitzt:

Rückstand = 5,9751 = 75 88%.

Abgespalten waren somit 24,12%.

1,9021 des durch Erhitzen mit Wasser erhaltenen, bei 105° getrockneten Rückstandes gaben:

0,0073 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,095% P

auf ursprüngliches Nuclein berechnet.

Es sind also 89,4% des Gesammtphosphors abgespalten worden.

Das Filtrat vom Erhitzen mit Wasser ist fast wasserklar, reagirt stark sauer und zeigt bei Sommertemperatur rasch intensive Fäulnisserscheinungen. Es gibt mit Ammoniak eine prachtvoll rothe bis roth-violette Färbung, welche für das Nuclein der Weinkerne charakteristisch zu sein scheint, wenigstens entstand sie bei Hefe-Nuclein nicht. Wurde der ungelöste Rückstand vom Erhitzen mit Wasser nochmals mit Wasser erhitzt, so wurden wieder geringe Mengen Phosphor abgespalten, das Filtrat reagirte wieder schwach sauer und gab mit Ammoniak wieder eine schwache violett-röthliche Färbung.

Barytwasser erzeugt roth-violetten Niederschlag, dessen Filtrat sich nicht mehr mit Ammoniak färbt. Salpetersaures Silber erzeugt weisslichen, in Ammoniak und Salpetersäure löslichen Niederschlag. Bleiessig verursacht schmutzig-weissen Niederschlag, der sich theilweise in Essigsäure löst und daraus durch Ammoniak wieder gefällt wird.

Der beim Erhitzen mit Wasser erhaltene ungelöste Rückstand ist sehr wenig löslich in heisser concentrirter Salzsäure und wird aus dieser Lösung durch Natronlauge wieder gefällt. Er löst sich leicht mit rother Farbe in heisser Natronlauge, ist daraus mit Salzsäure in roth braunen Flocken fällbar. Er ist ferner löslich in warmer concentrirter Schwefelsäure, welche Lösung durch Wasser fast vollständig wieder in rothen Flocken gefällt wird.

In concentrirter warmer Salpetersäure löst er sich gleichfalls und wird daraus durch Wasser und Alkohol, durch letzteren nicht so vollkommen, wieder gefällt.

Reifestudien.

Es wurde jetzt eine quantitative Bestimmung des auf verschiedene Weise gebundenen Phosphors in den Weinkernen versucht, um das Verhältniss des Nucleinphosphors zu anderen phosphorhaltigen Verbindungen in den verschiedenen Reifestadien zu ermitteln.

Zu dem Behufe wurden ausgelesene, gut gereinigte Weinkerne zu einem ziemlich feinen Pulver zerstossen, die verschiedenen zur Analyse dienenden Portionen von ungefähr 10 gr. im Trockenschrank 24 Stunden bei 105° getrocknet und gut verschlossen über Schwefelsäure aufbewahrt.

Die zur Analyse dienende Quantität wurde in einem Extraktionscylinder 6 Stunden mit 30 cbcm. abs. Alkohol am Rückflusskühler extrahirt, mit der Vorsicht, dass auf den Kühler zur Vermeidung von Wasseranziehung ein Chlorcalciumrohr aufgesetzt wurde. Nach beendigter Extraktion wurde sogleich ein Kölbchen mit 30 cbcm. wasserfreiem Aether angesetzt und mit letzterem ebenfalls genau 6 Stunden extrahirt. Die vereinigten Alkohol-Aetherauszüge, welche

hauptsächlich den dem Lecithin[1]) angehörigen Phosphor enthalten dürften, wurden zur Trockene verdampft und die Phosphorsäure nach dem Zerstören mit Soda und Salpeter bestimmt.

Der im Extraktionscylinder verbleibende Rückstand wurde nach dem Abdunsten des Aethers mit einer Mischung von 10 cbcm. Salzsäure von 1,124 spec. Gewicht und 90 cbcm. destillirtem Wasser genau 24 Stunden bei 60—70° C. digerirt, dann noch warm filtrirt (am besten durch einen in die Trichterröhre gesteckten Baumwollenbausch, der das Filtrat klar ablaufen lässt), mit warmem destillirten Wasser, dem einige Tropfen Salzsäure zugefügt waren und schliesslich bis zur Entfernung der sauren Reaktion mit Alkohol und 2 mal mit Aether gewaschen. Die Filtrate wurden in einer Schale zur Trockene gebracht, mehrmals mit Salpetersäure eingedampft, hierauf zur Bestimmung des Phosphors mit Soda und Salpeter zerstört. Auf diese Weise erhält man den als phosphorsaures Salz vorhandenen Phosphor.

Der Filterrückstand, welcher das Nuclein enthält, wurde getrocknet und zur Bestimmung des Phosphors mit Soda und Salpeter zerstört.

Zur Ermittelung, ob der als Nucleinphosphor aufgeführte P nicht theilweise von phosphorsauren Salzen hergerührt hat, welche durch Salzsäure nicht vollständig ausgezogen worden waren, wurden 10 gr. Weinkerne wie oben mit Aether, Alkohol und verdünnter Salzsäure ausgezogen und der Rückstand verascht. Es resultirte eine sehr geringe Menge einer sauer reagirenden Asche, in welcher Basen nicht nachweisbar waren. Somit sind alle phosphorsauren Salze durch die verdünnte Säure vollständig ausgezogen worden und der zuletzt bestimmte P gehört allein dem Nuclein an.

Um vergleichbare Resultate zu erhalten, ist es unbedingt nothig, dass man immer annähernd gleiche Quantitäten

---

[1]) Das Lecithin ist allgemein verbreitet gefunden worden, ausser in thierischen Zellflüssigkeiten auch in Pflanzensaamen, Sporen, Knospen, jungen Trieben, Pilzen, Hefezellnn etc. vergl. Hoppe-Seyler: Physiologische Chemie, I. Theil, S. 79.

Kerne verwendet, mit gleich grossen Mengen die Flüssigkeiten während einer gleichen Zeitdauer auszieht, gleiche Mengen von Reagentien und Waschflüssigkeiten verwendet, überhaupt stets unter gleichen Bedingungen arbeitet.

1882er Kerne. 10 gr.

a) Mit Alkohol und Aether ausgezogen:

I.	II.
0,0058 $Mg^2O^7P^2$	0,0061 $Mg^2O^7P^2$
= 0,016 % P	= 0,017 % P.

b) Mit verdünnter Salzsäure ausgezogen:

0,0846 $Mg^2O^7P^2$	0,0834 $Mg^2O^7P^2$
= 0,236 % P	= 0.233 % P.

c) Rest mit Soda und Salpeter zerstört:

0,0122 $Mg^2O^7P^2$	0,0099 $Mg^2O^7P^2$
= 0,034 % P	= 0,028 % P.

1843er Kerne. 10 gr.

a) Mit Alkohol und Aether ausgezogen:

I.	II.
0,0114 $Mg^2O^7P^2$	0,0099 $Mg^2O^7P^2$
= 0,031 % P	= 0,027 % P.

b) Mit verdünnter Salzsäure ausgezogen:

I.	II.	III.
0,0885 $Mg^2O^7P^2$	0,0929 $Mg^2O^7P^2$	0,0875 $M^2O^7P^2$
= 0,248 % P	= 0,259 % P	= 0,244 % P.

c) Rest mit Soda und Salpeter zerstört:

0,0110 $Mg^2O^7P^2$	0,0097 $Mg^2O^7P^2$	0,0109 $Mg^2O^7P^2$
= 0,03 % P	= 0,027 % P	= 0,03 % P.

---

a) Mit Alkohol und Aether ausgezogen:

I.	II.	III.
0,0086 $Mg^2O^7P^2$	0,0084 $Mg^2O^7P^2$	0,0096 $Mg^2O^7P^2$
= 0,024 % P	= 0,023 % P	= 0,026 % P.

b) Mit verdünnter Salzsäure ausgezogen:

0,0881 $Mg^2O^7P^2$	0,0911 $Mg^2O^7P^2$	0,0926 $Mg^2O^7P^2$
= 0,242 % P	= 0,254 % P	= 0,258 % P.

c) Rest mit Soda und Salpeter zerstört:

0,0078 $Mg^2O^7P^2$	0,0079 $Mg^2O^7P^2$	0,0072 $Mg^2O^7P^2$
= 0,021 % P	= 0,022 % P	= 0,02 % P.

---

a) Mit Alkohol und Aether ausgezogen:

I.	II.
0,0088 $Mg^2 O^7 P^2$	0,0083 $Mg^2 O^7 P^2$
= 0,024% P	= 0,023% P.

b) Mit verdünnter Salzsäure ausgezogen:

I.
0,0903 $Mg^2 O^7 P^2$
= 0,252% P.

c) Rest mit Soda und Salpeter zerstört:

I.	II.
0,0074 $Mg^2 O^7 P^2$	0,0082 $Mg^2 O^7 P^2$
= 0,020% P	= 0,022 P.

Nachdem die Beleg-Analysen befriedigend ausfielen, wurden aus 1883er Traubenbeeren (Riesling) einer Rebsorte von drei verschiedenen Reifestadien die Kerne herauspräparirt, etwas gewaschen, schnell mit Fliesspapier getrocknet und wie oben zur Analyse vorbereitet.

6. September: Beeren hart, unreif

1000 Kerne = 14,5960 gr.
Mittel aus drei Bestimmungen.

a) Mit Alkohol und Aether ausgezogen:
0.0142 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0039 P.

b) Mit verdünnter Salzsäure ausgezogen:
0,1308 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0365 P.

c) Rest mit Soda und Salpeter zerstört:
0,0154 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0043 P.

30. September: Beeren weich werdend.

1000 Kerne = 17,3229 gr.
Mittel aus vier Bestimmungen.

a) Mit Alkohol und Aether ausgezogen:
0,0153 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0.0042 P.

b) Mit verdünnter Salzsäure ausgezogen:
0,1511 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0422 P.

c) Rest mit Soda und Salpeter zerstört:
0,0135 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0037 P.

30. Oktober: Beeren reif.

1000 Kerne = 18,2615 gr.
Mittel aus vier Bestimmungen.

a) Mit Alkohol und Aether ausgezogen:
0,0174 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0048 P.

b) Mit verdünnter Salzsäure ausgezogen:

0,1616 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0451 P.

c) Rest mit Soda und Salpeter zerstört:

0,0139 $Mg^2 O^7 P^2$ = 0,0038 P.

Es hat demnach der Phosphor, welcher sich in den Alkohol- und Aether-Auszügen befindet, der also hauptsächlich vom Lecithin herrühren dürfte, sich vom 6. September bis 30. Oktober von 0,0039 auf 0,0048, also um 23% vermehrt, derjenige der mit verdünnter Salzsäure ausgezogenen Salze von 0,0365 auf 0,0451, also um ebenfalls 23%. Der dem Nuclein entsprechende Phosphor hat vom 6.—30. September eine geringe Abnahme von 0,0043 auf 0,0037 erfahren und ist dann bis 30. Oktober constant geblieben.

Der Gesammtphosphorgehalt der Kerne ist vom 6. September bis 30. Oktober von 0,0447 auf 0,0537, also um 20% gestiegen.

Die Trockensubstanz der Kerne ist im gleichen Zeitraume um 25% gestiegen.

Das Verhältniss des Phosphors der mit Aether-Alkohol ausgezogenen Substanzen zu dem der mit verdünnter Salzsäure ausgezogenen Salze und dem Nuclein-Phosphor in den drei Reifestadien stellt sich wie folgt:

6. September.

1 : 9,4 : 1,1

30. September.

1 : 10 : 0,9

30. Oktober.

1 : 9,4 : 0,8.

Strassburg, den 5. November 1884.

Ueber eine neue Methode, das Gehirn chemisch zu erforschen, und deren bisherige Ergebnisse.

Von

F. Baumstark.
Ausserordentlicher Professor zu Greifswald.

(Der Redaktion zugegangen am 20. November 1884.)

I.

Vorbereitende Versuche.

Seit längerer Zeit habe ich mich mit der Untersuchung der Gehirnmasse beschäftigt und bin nach und nach zu einzelnen bemerkenswerther erscheinenden Ergebnissen gekommen, die ich im Folgenden mittheile. Wenn auch die begonnene Untersuchung noch nicht vollendet ist, so wage ich es dennoch, mit den bis jetzt gewonnenen Resultaten hervorzutreten, welche zu einem gewissen Abschluss gelangt sind; doch hoffe ich bald weitere Mittheillungen machen zu können, wenn der nächste Winter uns noch eine Reihe kälterer Tage bringt.

Ursprünglich hatte ich mir nur als Ziel vorgesetzt, zu erforschen, ob die «Cerebrin» genannte phosphorfreie, glycosidartige Verbindung als solche im Gehirne präexistire oder ob dieselbe als ein Spaltungsprodukt des phosphorhaltigen Protagons aufzufassen sei, welches Letzteres dann die eigentliche ursprüngliche Gehirnsubstanz bilden würde.

Ich glaube zur Klarstellung dieser wichtigen Frage, wie das Weitere zeigen wird, Einiges beigetragen zu haben; sie ist aber mit der Zeit für mich eine fast nebensächliche geworden, indem sich mit der fortschreitenden Untersuchung

nach dieser Richtung hin anderweite Beobachtungen und Erfahrungen aufdrängten, die ganz neue Gesichtspunkte für manche davon ferner liegende Theile des Chemismus des Gehirnes eröffneten, wenn sie auch ursächlich in nächster Beziehung wieder zu der ersten Frage standen.

Es drängte sich vor Allem die Frage auf: Aus welchen Gründen besitzen wir so wenig allgemein als positiv wahr anerkannte Forschungsresultate über ein so vor allen anderen wichtiges Organ, wie das Gehirn es ist, trotzdem eine grosse Anzahl der bedeutendsten Forscher sich eingehendst mit demselben beschäftigt haben? Ich konnte einen Grund nur in bisher nicht zu überwindenden praktischen Schwierigkeiten finden.

Zunächst schien mir eine wesentliche Ursache für die Unklarheit, in der wir uns über die Gehirnstoffe befinden, darin zu liegen, dass für die erste Scheidung derselben keine genügend einfache Methode bis jetzt existire. Ich bemerke hier, dass ich nur diejenigen Verbindungen Gehirnstoffe nenne, welche als ursprünglich im Gehirn vorkommende aufzufassen sind, und nicht etwa von diesen derivirende einfachere Körper: Es würde meiner Benennung nach ein Gehirnstoff also das Protagon sein, wenn es wirklich als Verbindung existirt; nicht aber das sogenannte Cerebrin, es sei denn, dass auch dessen selbstständiges Vorkommen neben dem des Protagon erwiesen würde.

Das Gehirn, so complicirt wie kein anderes Organ chemisch zusammengesetzt, zeichnet sich aus durch seinen einzig dastehenden Gehalt an nur in Aether oder Alkohol löslichen Verbindungen. Zu den allein in Alkohol löslichen kann man nur gut gelangen, wenn man die in Aether löslichen zuvor entfernt hat. Nun bereitet aber ein Gehirnbrei schon allein bei der einfachen mechanischen Trennung des in Aether Gelösten von dem im Wasser Löslichen schwer zu überwindende praktische Schwierigkeiten. Dass ferner eine wässerige Anreibung der Gehirnmasse eine kaum filtrirbare Emulsion wegen des Quellungsvermögens einzelner Gehirnbestandtheile bildet, ist bekannt genug. Selbst bei

Kochtemperatur findet nur schwierig und langsam Coagulation des Festen statt, so dass auf diesem Wege kaum an eine Trennung des Flüssigen vom Festen zum Zwecke einer Aetherextraktion ohne tiefer eingreifende Zersetzung zu denken ist.

Dieser Schwierigkeit, das Feste von dem Flüssigen zu trennen, suchten Liebig, v. Gorup-Besanez, Müller durch Gypswasser, Barytwasser, Bleizuckerlösung, also Reagenzien, die entschieden von eingreifendster Wirkung auf manche Gehirnbestandtheile sein mussten (besonders in höherer Temperatur) zu begegnen. Ein solcher Eingriff ist aber unter allen Umständen zu vermeiden, wenn man einen sicheren Ueberblick über alle ursprüngliche Gehirnbestandtheile womöglich in einem und demselben Gehirne gewinnen will.

Um dies Problem zu lösen, galt es also, eine neue bessere Methode der Trennung der Gehirnbestandtheile zu erproben, die ohne Anwendung von eingreifenden Agentien diesen Zweck zu erreichen suchte und womöglich eine leichte Beseitigung des Wassers, ohne eine coagulirende Wirkung, wie sie der Alkohol z. B. auf Eiweisskörper besitzt, gestattete.

Dass dieses wenigstens zum Theil gelungen und dadurch die festen Eiweisskörper des Gehirns leichter wie früher zugänglich geworden sind, wird das Folgende zeigen.

Eine weitere Ursache für viele Unklarheiten schien mir dann in der Art und Weise zu liegen, wie der als Extraktionsmittel nicht zu umgehende Alkohol angewandt worden ist. Bereits Berzelius[1]) warf bei Besprechung der Auffindung des Cholesterins durch Gmelin im Gehirn die Frage auf: Findet es sich schon fertig gebildet oder bildet es sich erst durch Einwirkung des Alkohols? Er hielt letzteres für wahrscheinlicher und warnt damit indirekt davor, bei der Untersuchung derartiger Organe zuviel der Unschädlichkeit der angewandten Reagentien zu trauen.

Fast alle Gehirnuntersucher von Couerbe, Vauquelin, Lassaigne, Gmelin, Frémy, v. Bibra, Müller bis Parcus haben den Fehler begangen, dass sie nicht

---

[1]) Jahresbericht übersetzt von Wöhler 1827, S. 280.

schonend genug in dieser Beziehung bei der Isolirung der Bestandtheile verfuhren. Sie haben alle mit zu starkem Alkohol und dann in zu hoher Temperatur das Gehirn extrahirt und zwar meistens, nachdem es nur mangelhaft mit Aether erschöpft war. Dadurch wurden viele Zersetzungsprodukte der ursprünglichen im Gehirn vorhandenen Verbindungen in die weitere Arbeit gebracht. Man darf sich deshalb nicht wundern, wenn immer neue, interessante sogenannte Gehirnstoffe entdeckt wurden. Sie werden aber erst dann ihrer Bedeutung entsprechend richtig geschätzt werden können, wenn man genau die Quellen kennt, aus denen sie stammen, und die Bedingungen, unter welchen sie aus diesen hervorgegangen sind.

Unter allen Umständen wird man aber bei diesen Untersuchungen gezwungen sein zur Gewinnung einzelner Stoffe eine erhöhte Temperatur anzuwenden. Es würde aber verfehlt sein, auf die Präexistenz einer Verbindung zu schliessen, wenn man dieselbe aus einem (besonders wasserhaltigen) Gemenge bei Kochtemperatur erhalten hat. Man muss durchaus möglichst nahe der Körperwärme bleiben: vor Allem bei der ersten Isolirung einer Verbindung aus einem Gemenge, wie es gerade dieses Organ darbietet. Bei der weiteren Reindarstellung kann man in der Regel schon bei etwas höherer Temperatur vorgehen.

Nur Liebreich und Blankenhorn & Gamgee haben diesen Fehler der Anwendung zu hoher Temperaturen vermieden und darum auch andere und zwar einfachere Resultate erreicht, wie die meisten anderen Untersucher. Es ist also durchaus nothwendig, um auf die ursprünglichen Gehirnstoffe zu kommen:

1. Das Wasser des Gehirns vor Allem vollständig zu entfernen;
2. Den Aetherextrakt danach vor der Alkoholextraktion ganz zu beseitigen;
3. Nicht zu starken Alkohol, und
4. In nicht zu hoher Temperatur anzuwenden.

Aus dem im Vorigen Erörterten ist ersichtlich, warum nothwendiger Weise die quantitativen Gesammtanalysen des Gehirns nur mit einiger Sicherheit über die grössten Gruppen der Bestandtheile, als da sind: Wasser-, Aether-, Alkohol-Extrakt und das in diesen Mitteln Unlösliche Auskunft geben konnten. Während die älteren Analysen von Vauquelin[1]) und Lasseigne[2]) sich in diesen Grenzen bewegen, beschränken sich die vielen Bestimmungen von Schlossberger, Walther-Hauff und von Bibra nur auf das Wasser, das Feste und das sogenannte Gehirnfett zum Zwecke der Vergleichung der verschiedensten Gehirne unter den verschiedensten Lebensbedingungen unter einander.

Erst in neuerer Zeit wurden Analysen von Petrowsky[3]) und Gobley[4]) ausgeführt, in denen die Gehirnfette zerlegt wurden in Cholesterin, Lecithin, Cerebrin u. s. w. und die Eiweisskörper in lösliche und unlösliche.

Ersterer aber rechnete zum Cerebrin Alles, was in Alkohol und nicht in Aether löslich war. Das in Aether Lösliche gab, nachdem das aus dem gefundenen P berechnete Lecithin abgezogen, die Summe von Cholesterin und Fett. Nichts aber berechtigt dazu, allen P im Lecithin anzunehmen. Er machte auch den Versuch, das unlösliche Eiweiss von den anderen in Alkohol und Aether nicht löslichen Stoffen durch Magensaft quantitativ zu trennen.

Wie die Bestimmungen Gobley's ausgeführt sind, ist mir aus den mir zugänglichen Angaben nicht ersichtlich. Das mitgetheilte Resultat[5]) scheint mir mehr ein Mittel aus vielen verschiedenen Analysen, als das Resultat einer einheitlichen zu sein. Er bestimmte allerdings das lösliche Eiweiss, aber das unlösliche warf er, wie mir scheint, mit dem Neurokeratin Kühne's und dem Nuclein zusammen und berechnet es als «Cephalin».

---

[1]) Annales de chimie, T. 81, p. 37.
[2]) Jahresbericht 1837, S. 371.
[3]) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. VII, S. 367.
[4]) Archiv für Pharmacie, [3], Bd 10, S. 445.
[5]) Chemisches Centralblatt 1877, S. 480 und 1874, S. 599.

Bourgoin[1]) bestimmte ebenfalls das lösliche Eiweiss gesondert.

Ich habe während mehrerer Winter mich bemüht, eine Methode zu finden, welche, soweit irgend es die Eigenschaften der einzelnen Gehirnbestandtheile erlauben, ohne Anwendung weiter eingreifender Agentien, als es Aether und Alkohol sind, und bei einer die Körperwärme nicht übersteigenden Temperatur, eine Trennung der hauptsächlichsten Bestandtheile gestatte, und sie möglichst intakt zur weiteren Untersuchung liefere. In folgendem Verfahren glaube ich diesen Weg gefunden zu haben; zugleich habe ich aber auch den Versuch gemacht, die Andeutungen, welche in demselben gegeben sind, zu einer quantitativen Erforschung des Gehirns nutzbar zu machen[2]).

Wenn man ein Gehirn oder ein Stück davon in gewöhnlichen käuflichen Aether bringt, so dringt allmälig der Aether in die Gehirnmasse ein und verdrängt dafür die wässerige Flüssigkeit derselben mit dem, was in ihr gelöst ist. Bei diesem Vorgange nimmt der Aether nach und nach Alles, was in ihm löslich ist auf, während er dasjenige was in Wasser und Aether unlöslich, aber in Alkohol löslich ist und das auch in Alkohol Unlösliche unverändert zurücklässt.

Schon Couerbe[3]) sagt in seiner Abhandlung «Das Gehirn in chemischer und physiologischer Hinsicht»: Die

---

[1]) Zeitschrift für Chemie, 1866, S. 608.

[2]) Ich muss bemerken, dass diese Methode unabhängig von den Beobachtungen Struves, welche veröffentlicht sind im Journal für prakt. Chemie, Bd. 27, S. 231 (das Heft ist geschlossen den 20. Januar 1883) gefunden wurde und früher schon von mir selbstständig zur Untersuchung der Gehirnmasse angewendet wurde. Ich habe über dieselbe mit Vorlegung einschlägiger Präparate bereits im Greifswalder medicinischen Verein am 2. Dezember 1882 (Referat ist abgedruckt in der deutschen medicinischen Wochenschrift Nr. 18, 1883) einen eingehenden Vortrag gehalten; derselbe war für die Sitzung dieses Vereins am 10. Juni 1882 bereits angekündigt, wurde aber wieder wegen Fülle von Material abgesetzt. Doch legte ich damals schon sich besonders dafür interessirenden Herren die oben erwähnten Präparate vor.

[3]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 13, S. 222.

erste Behandlung des Gehirns mit Aether lieferte eine wenig Fett enthaltende Auflösung: es schien, als wenn der Aether sich darauf beschränkt hätte, die Feuchtigkeit des Gehirns auszuscheiden, welche, indem man den Aether abgoss, zugleich mit abfloss. Die zweite Behandlung lieferte eine an Fett reichere Lösung, die nur Spuren von Feuchtigkeit enthielt.»

Es liess sich annehmen, dass hier eine eigenthümliche Erscheinung der Dialyse vorliege, beruhend auf dem gegenseitigen Lösungsvermögen zwischen Aether und Wasser.

Einige nach dieser Richtung hin unternommene Versuche bestätigten diese Ansicht vollständig.

Diese Versuche wurden, um mit der Erscheinung am Gehirne möglichst analoge Verhältnisse zu gewinnen, mit Diffusionsapparaten angestellt, deren Membran gut mit Aether entfetteter thierischer Darm bildete. Ein Stück solchen Darmes wurde einfach an einem Ende zugebunden und, nachdem es sich mit Wasser gefüllt, längere Zeit freihängend als wasserdicht erwiesen, in die Versuchsflüssigkeit gehängt und während 24 Stunden beobachtet.

Spätere Versuche zeigten, dass die beobachtete Erscheinung nicht eine der thierischen Zelle oder Haut etwa eigenthümliche ist, sondern dass mit Pergamentpapier ganz dasselbe erreicht werden kann.

Als Diffussionsapparat diente, um jede Verdunstung der leicht flüchtigen Substanzen zu vermeiden, und um doch unabhängig vom Drucke in geschlossenen Gefässen zu sein, folgender Apparat. Ein weithalsiges Pulverglas von 200 cbcm. Inhalt mit Korkstöpsel trägt in diesem zwei gerade so weite Röhren, dass man eine dünn ausgezogene Trichterröhre einführen kann. Von diesen Röhren ragt die eine frei unter dem Korke heraus, während die zweite eine durchbohrte Korkscheibe an ihrem unteren Ende trägt. An diese Korkscheibe wird das offene Ende des Darmes gebunden und dann der ganze Kork auf die Flasche gesetzt. Durch die eine Röhre füllt man die Flasche, durch die andere den Darm und verbindet dann die oben herausragenden Enden

der Glasröhre durch ein Stück Gummischlauch. So stehen beide Diffussionsräume immer unter dem gleichen Luftdruck und Verdunstung wird vermieden. Zur Füllung des Apparates wurden jedesmal 150 cbcm. Flüssigkeit für das äussere Gefäss und etwa 40 cbcm. für den Darm angewendet.

Versuche.

1. Der Darm mit Wasser gefüllt und in Benzol- oder Petroleumäther gehängt, lässt kein Wasser durchtreten. Die beiden Flüssigkeiten bleiben ganz klar und es sammelt sich am Boden des Gefässes kein Wasser an.

2. Fügt man dem Benzol oder Petroleumäther ganz wenig Alkohol hinzu und hängt dann den mit Wasser gefüllten Darm hinein, so tritt dieses hindurch und strömt wolkenartig durch die beiden Flüssigkeiten, bis die zuerst auftretenden Wassertröpfchen so gross geworden sind, dass sie zu Boden fallen.

3. Ordnet man den Versuch so an, dass alkoholhaltiges Benzol oder Petroleumäther in dem Darm sich befinden und das Wasser aussen, so schwimmt der Darm zunächst auf dem Wasser; bald bemerkt man zwei Schichten in demselben und jemehr die untere, nämlich das eingetretene Wasser, zunimmt, senkt sich der Darm mehr und mehr. Nach einiger Zeit tritt Stillstand ein, und es bleibt nun das Wasserniveau im Darme constant niedriger als das äussere, so dass Benzol u. s. w. auf diesem schwimmend anscheinend etwas niedriger stehen als früher.

   In das Wasser ist kein Benzol u. s. w. getreten.

4. Wird der mit Wasser gefüllte Darm in wasser- und alkoholfreien Aether gehängt, so beginnt langsam das Wasser aus der Membran zu dem Aether zu treten, aber ohne dass man ein wolkiges Ausströmen bemerkt. Es lösen sich vielmehr von der Membran schon grössere Tropfen ab, die sich dann am Boden des Aethergefässes ansammeln. Nach einiger Zeit hört aber das Ausfliessen auf. Ein Eintritt von Aether in den Darm zum Wasser war nicht zu constatiren.

5. Nimmt man statt des alkoholfreien gewöhnlichen, also alkoholhaltigen Aether, so erscheint der ganze mit Wasser gefüllte Darm sofort nach dem Einhängen in denselben, wie mit einer Wasserschicht äusserlich umzogen und dasselbe fliesst durch den sonst wasserdichten Darm, als wenn es durch ein Filter hindurchginge und sinkt in grossen Tropfen zu Boden. Nach einiger Zeit ver-

langsamt sich der Wasserabfluss, bis er schliesslich anscheinend ganz aufhört. Mit einer Portion Aether war aber niemals alles Wasser aus dem Darme bei obigem Grössenverhältnisse des Apparates zu bekommen. Es gehörte eine öftere Erneuerung des Aethers dazu.

6. Drehen wir den Versuch 4 und 5 wieder um, so dass der Aether in den Darm kommt und dieser in Folge dessen schlaff gefüllt halb auf dem Wasser schwimmt. Sofort beginnt ein lebhaftes Durchtreten des Wassers, so dass der Darm sich füllt und senkt, bis er schliesslich straff angespannt herabhängt. Es tritt in kurzer Zeit so viel Wasser zu dem Aether, dass dieser auf einer Wasserschicht im Darme schwimmt.

So fanden sich z. B. in einem Versuche bei Anwendung von 10 cbcm. Aether nach 5 Stunden 6 cbcm. Wasser, in einem anderen bei 15 cbcm. Aether nach 10 Stunden 8 cbcm Wasser unter diesem in Darme vor. Im äusseren Wasser war kein Aether in Substanz zu constatiren. Er war nur durch den Geruch darin wahrzunehmen.

Wir haben also:

1. Reines Benzol oder Petroleumäther gegen Wasser zeigt keine Diffusion;
2. Alkoholzusatz bewirkt dieselbe;
3. Alkoholfreier Aether gegen Wasser zeigt Diffusion;
4. Alkoholgehalt des Aethers vermehrt dieselbe.

Daraus geht hervor, dass diese Erscheinung hervorgerufen wird durch das gegenseitige Lösungsvermögen der einzelnen Flüssigkeiten gegenüber dem Wasser.

Wodurch es aber bewirkt wird, dass in der Zeit mehr von einer Flüssigkeit hindurchtritt, als die andere zu lösen vermag, warum z. B. das Wasser tropfenweise durch den Darm zum Aether fällt oder warum das diffundirende Wasser mit solcher Gewalt in den Darm eintritt, dass es diesen straff anspannt, das ist eine noch weiter zu erforschende Thatsache.

Ferner ist zu beachten, dass immer nur das Wasser zu der anderen Flüssigkeit tritt, nie umgekehrt ein Uebertritt zum Wasser stattfindet. Denken wir uns aber in dem Wasser einen in Aether sehr leicht löslichen Körper, wie z. B. Cholesterin oder Fette, emulgirt oder gelöst, so wird das Bestreben

des Aethers zu diesem zu treten, so vermehrt werden, als der Alkoholzusatz z. B. die Benzoldiffusion vermehrt.

Endlich ist diese Diffusion eine dem Aether eigenthümliche Erscheinung, die der Alkoholzusatz allerdings vermehrt. Der Alkohol ist nicht die Ursache derselben, sondern auch alkoholfreier Aether bewirkt dieselbe und das ist wichtig für unsere weiteren Zwecke. Denn wir können danach aus dem Gehirne das Wasser oder wenigstens die überwiegende Menge desselben, gewissermassen herausziehen, ohne eine andere Wirkung als die lösende des Aethers auf gewisse Bestandtheile zu befürchten.

Es fragt sich nun ferner, wie sich wässerige Lösungen diffusibler Substanzen gegenüber dem Aether verhalten: Ob eine solche Lösung sich durch die Membran bewegt, ohne eine Einbusse an gelöster Substanz zu erleiden oder ob auch Diffusionsvorgänge in Bezug auf die gelöste Substanz stattfinden. Um dieses zu entscheiden, wurde ein gemessenes Volumen Kochsalzlösung von bekanntem Gehalte der Aetherdiffusion ausgesetzt, sowohl mit alkoholfreiem als mit gewöhnlichem käuflichen Aether. Nach einiger Zeit wurde sowohl das Volumen der diffundirten Salzlösung als auch des Rückstandes gemessen und in beiden Partien das darin enthaltene Kochsalz nach Mohr titrirt. Das Resultat war, dass die Kochsalzlösung unvermindert passirte, soweit nicht die Membran selbst als solche etwa befähigt ist, Kochsalz in sich aufzunehmen, und soweit nicht das Volumen der Lösung durch aufgenommenen Aether oder Alkohol sich veränderte. Ich will zum Beweise dessen von einer ganzen Reihe angestellter Versuche nur zwei, die typisch für die anderen sind, anführen:

0 cbcm. NaCl-Lösung = 0,9477 gr. NaCl (10 cbcm. = 40,5 $^1/_{10}$ normal $AgNO_3$ = 0,2369 gr. NaCl) wurden der Diffusion ausgesetzt während 24 Stunden im beschriebenen Apparate gegen Aether:

I. Alkoholfreien.	**II. Gewöhnlichen.**
Nach 24 Stunden fanden sich:	
a) im Darme.	
27,5 cbcm. = 0,6338 gr. NaCl	23,5 cbcm. = 0,5004 gr. NaCl
(10,0 « = 0,2305 « «)	(10,0 « = 0,2129 « «)

I. Alkoholfreien.	II. Gewöhnlichen.
b) diffundirt.	
14,5 cbcm. = 0,2850 gr. Na Cl	23,0 cbcm. = 0,4144 gr. Na Cl
(10,0 « = 0,2036 « «)	(10,0 « = 0,1802 « «)
Im Ganzen also.	
27,5 cbcm. = 0,6338 gr. Na Cl	23,5 cbcm. = 0,5004 gr. Na Cl
(14,0 « = 0,2805 « «)	(23,0 « = 0,4144 « «)
41,5 cbcm. = 0,9188 gr. Na Cl	46,5 cbcm. = 0,9148 gr. Na Cl

Danach ist also in beiden Fällen fast alles Kochsalz wiedergewonnen worden:

Statt 0,9477 gr. die zum Versuche genommen worden:

in I 0,9188 gr. Differenz = 3,05%
II 0,9148 « « = 3,47 «

Diese Differenz kann darauf beruhen, dass die Darmwand vielleicht Kochsalz bindet oder dass es nicht gelang, alle kochsalzhaltige Flüssigkeit aus dem Darme ganz wiederzugewinnen.

Jedenfalls ist der Verlust ein so geringer, dass er nur auf eine bei aller Vorsicht mangelhafte, aber kaum zu umgehende Versuchsanordnung zurückzuführen ist.

Das Volumen der Kochsalzlösung hat oben und unten im Dialysator durch Aufnahme von Aether oder Alkohol zugenommen, die Concentration dagegen ab. Da wo es sich um Aether allein handelt, weniger und gleichmässiger als da, wo auch der Alkohol in Betracht kommt. Im ersteren Falle fast gleichmässig, im zweiten mehr unten im äusseren Glasgefässe, wo die wässerige Flüssigkeit den alkoholhaltigen Aether passiren musste, als oben im Darme.

Jedenfalls geht meiner Ansicht nach aus diesen Versuchen hervor, dass die Kochsalzlösung in unveränderter Concentration die Darmwand passirte. Dass diese nicht durch die Diffusion durch die Membran, sondern durch ihre Fähigkeit Alkohol und Aether zu lösen verändert wurde.

Die eben besprochenen Erscheinungen zeigt nun aber die Masse des Gehirns in schönster Vollendung. Aus dem Gehirne oder einem Stücke desselben, das so für sich absolut keine Flüssigkeit mehr austreten lässt, fällt das Wasser sofort

zuerst stromweise, in grossen Tropfen, dann langsamer, so wie man es in Aether hängt. Dieses Wasser ist der Fleischextrakt in seiner ganzen Concentration.

Der Aether aber dringt mittelst seines Vermögens, Fett leicht zu lösen, begierig wieder hinein und erfüllt die Räume, welche das Wasser vorher einnahm, vollständig.

Wenn man Gehirn z. B., nachdem das Wasser in demselben durch Aether ersetzt worden, vollständig mit Chlorcalcium austrocknet unter Aether und den aufgenommenen dann in einem trockenen Raume verdunsten lässt, so bleibt die ursprüngliche Form der Masse fest und wohlerhalten fast ohne Einschrumpfung bewahrt.

Diese Erscheinung gestattet nun eine glatte Trennung der in Aether löslichen Gehirnbestandtheile von den in Wasser löslichen und allen anderen. Zugleich ermöglicht sie aber auch die Aufarbeitung der Gehirnmasse in einer gewissermassen antiseptischen Weise. Denn da Aether, wie schon länger bekannt antiseptisch wirkt, so braucht man nur die Gehirne unmittelbar vom Thiere, bevor sich noch Zersetzungskeime einnisten können, zur sofortigen Bearbeitung in denselben zu bringen und gewinnt dann die einzelnen Gruppen der chemischen Bestandtheile je nach ihrer Löslichkeit getrennt von einander, ohne eine von Aussen eingeleitete Zersetzung befürchten zu brauchen.

Dass keine weitere Veränderung auf dem von mir erprobten Wege der Bearbeitung im Gehirn eingetreten sein kann, wenn richtig verfahren wurde, als wie solche nothwendig mit dem Tode verbunden, beweist wohl am besten der Umstand, dass der Wasserextrakt so wenig sauer gewonnen wurde, dass darin niemals ohne Säurezusatz beim Aufkochen das Eiweiss coagulirte und dass derartiger Extrakt nach einjähriger Aufbewahrung in einer Stöpselflasche unter einer Aetherschicht noch so frisch und unverändert war, wie eben gewonnener.

Um nun möglichst die eigentliche wässerige Flüssigkeit der Gehirnmasse ohne den Inhalt der Gefässe zu bekommen, wurde von folgender Erfahrung Gebrauch gemacht: Wenn

man ein ganz frisches Gehirn sofort nach der Entnahme aus dem Schädel in eine Aether-Atmosphäre hängt, so läuft das Blut in einiger Zeit so vollständig heraus, dass nur minimale Spuren desselben in die später durch Aether-Diffusion zu gewinnende Fleischflüssigkeit gelangen; dieselbe sieht dann gelblich, zuweilen in dickeren Schichten etwas röthlich aus und manchmal gelang es nicht, spectroskopisch darin Blutfarbstoff nachzuweisen. Wenn man dieselbe von Aether befreit stehen lässt, so tritt nur eine ausserordentlich geringe Fibringerinnung ein.

Man erhält also, wenn man auch diese Vorsichtsmassregel anwendet, fast einzig und allein den Inhalt der eigentlichen Gehirnmaterie; wenigstens mit nur soviel des Inhalts der Blutgefässe verunreinigt, dass es kaum in Betracht kommen kann.

Ausser auf das Gehirn lässt sich das besprochene Verfahren besonders auch auf solche Organe mit Vortheil anwenden, die wie dieses relativ viel in Aether lösliche Bestandtheile enthalten. So scheinen mir z. B. die männlichen Geschlechtsorgane der Fische, nach diesem Principe behandelt, bemerkenswerthe Resultate zu versprechen. Wenigstens ergab die vorläufige Untersuchung der Häringsmilch einige neue Beobachtungen (im wässerigen Diffusat z. B. die Verbindung einer organischen Säure mit einer gleichen Base) deren weitere Verfolgung von Interesse zu sein scheint.

II.

Qualitative Untersuchung.

Nachdem die ersten Versuche mit Kalbs-, Hammel- und Rindsgehirn angestellt worden, wurden später ausschliesslich Pferdegehirne angewandt. Da hier nur in der kälteren Jahreszeit Pferde geschlachtet werden, so war dies für die Anfangsarbeiten günstig; denn wenn auch bei jeder Jahrestemperatur unzersetztes Versuchsmaterial zu gewinnen war, so gewährt doch die kältere Zeit eine grössere Garantie des Gelingens. Bei der bedeutenden Anzahl von Gehirnen, die ich in Arbeit

nahm (im Winter 1881—1882 über 50 Stück), war es natürlich nicht möglich für mich, jedes derselben persönlich sofort vom Thiere aus in Arbeit zu nehmen; dieselben wurden vielmehr gleich beim Schlachter nach der Entnahme aus dem Schädel möglichst unversehrt einzeln in weite Gläser mit Glasstöpseln, die etwa ⅛ ihres Volumens Aether enthielten gebracht. Dass dies wirklich möglichst rasch nach dem Tode des Thieres geschehen, war leicht daran zu erkennen, dass später das Blut leicht aus den Gehirnen herausfloss; dann war auch der erste Aetherextrakt stets fast farblos. Um jedoch zu constatiren, dass hierbei kein Versehen gemacht worden, wurden die Gehirne zunächst einzeln bearbeitet und erst später, nachdem sie sich als brauchbar erwiesen, zum völligen Austropfen der Blutflüssigkeit zu etwa 3 oder 4 über Aether in weithalsige Stöpselgläser gehängt. Endlich, wenn dies vollendet schien, wurden sie bis zu 20 Stück zur Diffusionsextraktion in grosse mehr breite als hohe Glasgefässe, damit ein grösserer Druck der einzelnen Stücke auf einander vermieden werde, gebracht und diese mit aufgeschliffenen Glasplatten, die mit Leinmehlkitt verlutirt wurden, verschlossen.

Nachdem das Blut ausgeflossen, wurden die bis dahin möglichst ganz gebliebenen Gehirne von der äusseren Haut, die sich in der Regel sehr leicht abziehen liess, befreit und in grössere Stücke zerschnitten. Dann zog ich zuerst etwa alle 8, später alle 14 Tage die ausgeflossene wässerige Flüssigkeit mit einem Heber ab und füllte den Aether wieder auf, so dass er immer 1—2 cm. über der Gehirnmasse stand. Bei den bisherigen Operationen hatten die Gefässe einen durchlöcherten Einsatzboden von Weissblech etwa 5 cm. über dem Boden des Gefässes, auf den die Masse in einem Stücke engmaschiger Gaze gelegt wurde, um das Hinabfallen kleinerer Stücke in das ausgetretene Wasser zu verhindern. War nach 2—3 Monaten die Diffusion vollendet, so wurden die Gehirnstücke in flache, etwa 1 cm. dicke Scheiben geschnitten und in einem Gefässe ohne doppelten Boden mit relativ mehr Aether die Extraktion zu Ende geführt. Diese war etwa

wiederum bei 8—14-tägiger Erneuerung des Aethers in zwei Monaten beendet.

Von den einzelnen Aetherextrakten wurde der Aether immer sofort bei möglichst niederer Temperatur abdestillirt; jedoch nicht ganz, sondern nur soweit, dass nach dem Erkalten eine dünn-flüssige, leicht ausgiessbare Masse blieb, aus der durchaus Nichts auskrystallisirte. Dadurch wurde die Temperatur von 40° nicht überschritten. Bei der Temperatur des kochenden Aethers wurden diese Extrakte fast farblos, beim Erkalten färbten sie sich gelblich und nahmen dann je nach der Concentration eine mehr oder weniger dunkle Honigfarbe an. Niemals aber dürfen sie sich braun oder roth-braun zeigen; denn dann ist Zersetzung eingetreten.

Nach vollendeter Aetherextraktion übergiesst man die noch völlig weiche Gehirnmasse mit Weingeist von 80 %, hebt nach 24 Stunden dieselbe in dem Gazetuch aus dem Gefässe, lässt abtropfen und presst zwischen Presstuch leicht aus; doch nur so gelinde, dass die Masse nicht zerquetscht wird. Dadurch wird der Rest des Aethers und noch restirendes Wasser entfernt. Nun wiederholt man diese Operation mit Weingeist von 95 % 2 mal, dabei nimmt das Volumen des Rückstandes sehr bedeutend ab. Zuletzt presst man sehr kräftig aus, wodurch man einen trockenen, zähen, leicht in Fasern zu zerreissenden Presskuchen erhält. Dieser wird zerkleinert in absoluten Alkohol gebracht und darin einige Tage gelassen. Nachdem auch dieser Alkohol abgegossen, breitet man den harten Rückstand auf Papier aus und lässt den Rest des Alkohols bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten.

Es bleibt nun eine leicht zu Pulver zerreibliche, ganz trockene Substanz, die kein Bestreben zeigt, wieder Feuchtigkeit aus der Luft aufzunehmen, die sich ohne Zersetzung beliebig lange aufbewahren lässt und, wenn sie zerrieben worden, sehr bequem zur weiteren Verarbeitung ist. Nach und nach ist auf diesem Wege ohne Verlust das Volumen des Rohmaterials so verkleinert worden, dass man die weitere

Verarbeitung von zehn Pferdegehirnen bequem in einem zwei Liter fassenden Kolben vornehmen kann.

In einem Kolben erwärmte ich nun die von Aetherextrakt und Wasser befreite Gehirnmasse mit etwa dem vier- bis fünffachen Volumen Weingeist von 85 % auf etwa 45° und erhielt längere Zeit unter öfterem Umschütteln bei dieser Temperatur. Es ist nicht nöthig, die Temperatur von 45° ängstlich inne zu halten: ich stellte die Kolben von etwa 1 ½—2 Liter Inhalt auf mehrfachen Lagen Löschpapier auf die Platte des Wasserbades und schüttelte dieselben häufig um; dadurch überschritt die Temperatur des Inhaltes niemals am Tage 48°. Nach 12 Stunden giesst man den klar über dem schweren Bodensatze stehenden Weingeist, ohne zu filtriren ab. Da diese erste Lösung bei 45° ganz gesättigt ist, so erstarrt sie fast momentan bei nur geringer Abkühlung zu einer schneeweissen Krystallmasse, die sich sehr leicht und rasch abfiltriren lässt.

Man wiederholt die Extraktion bei 45° 3—4 mal mit dem abfiltrirten Weingeist; dadurch wird fast völlige Erschöpfung erzielt. Die letzten Auszüge kann man, ohne dass bei Zimmertemperatur sofort Krystallisation stattfindet, abfiltriren. Den letzten Rest des Löslichen entzieht man der Gehirnmasse durch Nachwaschen mit 40—50° warmem Alkohol auf dem Filter.

Hat man im Sommer die Krystallisation sich im kühlen Keller vollziehen lassen, so erhält man noch weitere Krystalle, wenn man die Mutterlauge ebenso, wie die früheren zweiten kalten Auszüge mit Weingeist von 95 % und den mit absolutem Alkohol mit Eis und Kochsalz abkühlt.

Den von den Krystallen getrennten Weingeist destillirt man ab. Es bleibt ein schmieriger, halb wässeriger, halb öliger Extrakt zurück, der sich auf Aetherzusatz in eine wässerige und eine ätherische Schicht, in denen nur sehr wenig unlösliche Flocken sich befinden, trennt. Erstere gab ich zu dem ersten wässerigen Diffusat, um sie mit diesem zu untersuchen. Letztere wurde dagegen, da in ihr entschieden nur Zersetzungsprodukte vorhanden, nach dem

Entfernen des Aethers mit Barytwasser verseift und auf Neurin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren verarbeitet.

Nach dieser Methode ist die Gehirnmasse zerlegt in:

1. Wasserextrakt,
2. Aetherextrakt,
3. Alkoholextrakt,
4. Unlöslicher Rückstand.

1. Enthält nach meinen bisherigen Untersuchungen alle Bestandtheile des Fleischextraktes ausser Kreatin; davon auffallend viel Xanthinverbindungen und Milchsäure.

Seine Untersuchung ist noch nicht völlig abgeschlossen und werde ich erst später ausführlich über dieselbe berichten.

Ueber 2 und 3 referire ich in besonderen Abschnitten. Doch ist zu bemerken, dass der Aetherextrakt immer etwas von der durch Alkohol isolirbaren Substanz enthält.

4 enthält:

a) Nuclein,
b) Neurokeratin,
c) Albuminstoffe,
d) Bindegewebe.

Wenn man diesen Rest wieder bei gewöhnlicher Temperatur trocknet und durch ein feines Sieb treibt, so bleiben die etwa vorhandenen Gefässe in Form elastischer Fäden oder mehr oder weniger wolliger Massen zurück. Wenn man dann das feine Pulver mit Pepsinsalzsäure behandelt, so wird c und d entfernt und man kann das Nuclein mit Natronlauge ausziehen. Als Rest bleibt dann das Neurokeratin. Ich berichte über diese Verhältnisse speciell in der quantitativen Untersuchung.

Die löslichen Albuminstoffe sind im Wasserextrakte enthalten, sie verhalten sich völlig wie die des Fleischextraktes.

Die unlöslichen dagegen sind nur zu erforschen, wenn man direkt nach der Aetherdiffusion, bevor man mit Alkohol behandelt, die feste Masse mit passenden Lösungsmitteln extrahirt. Meinen bisherigen, wenn auch sehr beschränkten, Versuchen nach verhalten sie sich dem Casein ähnlich.

Von den anorganischen Salzen sind die löslichen im Diffusat, die unlöslichen im letzten Rückstande und gehen von da in den Pepsinsalzsäure-Auszug über.

Aetherextrakt.

Das durch Aether gewonnene Extrakt wurde, wie schon erwähnt, nur soweit von demselben durch Destillation befreit, dass noch eine leicht ausgiessbare Flüssigkeit blieb, die durchaus keine Neigung zeigte, ohne weitere Verdunstung zu krystallisiren. Doch schieden sich, wenn der Aether möglichst weit abdestillirt worden, weisse Flocken in ziemlicher Menge aus. Dieselben waren P-haltig und erwiesen sich nach dem mehrmaligen Umkrystallisiren aus Alkohol bei 45° als identisch nach Krystallisation und Schmelzpunkt mit der aus dem Alkoholextrakt gewonnenen Substanz. Dieselbe hatte sich in der grossen Menge des Diffusionsäthers gelöst, da sie etwas darin löslich ist, fällt aber bei der Verringerung des Volumens desselben heraus. Frémy machte schon dieselbe Beobachtung[1]). Ich versuchte nun, nachdem diese Flocken abfiltrirt worden waren, zunächst das Cholesterin, das in diesem Auszuge sein musste, als eine schon bekannte Verbindung bei möglichster Schonung für das noch übrige Vorhandene zu entfernen. Zu diesem Zwecke giesst man am Besten die ätherische Lösung in etwa das gleiche Volumen Alkohol von 95 %, wodurch sofort eine fast weisse krystallinische Ausscheidung von Cholesterin, das nur mit einer braunen, flockigen Materie durchsetzt ist, erfolgt. Stellt man dann das Gemenge in einem offenen Becherglase an einen mässig warmen Ort, bis der Aether verdunstet ist und lässt es darauf einige Zeit zugedeckt bei niederer Temperatur stehen, so ist fast alles Cholesterin herauskrystallisirt. Man bringt dasselbe am Besten auf einen mit Glaswolle lose verstopften Trichter, lässt abtropfen und wäscht mit kaltem Alkohol nach, indem man durch zeitweisen Verschluss des Trichterrohres dafür sorgt, dass der erneute Alkohol einige

---

1) Untersuchungen über das Gehirn. Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 40, S. 69.

Zeit über dem Trichterinhalte stehen bleibt. Wenn der Alkohol sich nicht mehr färbt, hat man auf dem Trichter fast reines, nur mit oben erwähnter brauner Materie durchsetztes Cholesterin, das leicht aus Alkohol in grossen Blättern vom Schmelzpunkte 145° krystallisirt, ohne dass dadurch die braune Materie entfernt wird. Dieselbe ganz zu beseitigen, ist mir bis jetzt nur durch ihre Zersetzung gelungen, indem ich mit weingeistigem KHO kochte. Nach dem Verjagen des Alkohols wurde aus der so erhaltenen wässerigen Seifenlösung das Cholesterin rein durch Aether aufgenommen. Verwandelte man es in den Benzoësäureäther nach der Methode von E. Schulze[1]), so zeigte dieser nur eine Krystallform; verseifte man diesen wieder und extrahirte mit Aether, so lieferte dieser nur gewöhnliches Cholesterin, Schmelzpunkt = 145°.

Noch einen anderen Weg gibt es, um die in kaltem Alkohol löslichen Verbindungen von Cholesterin und der braunen Materie zu trennen, ohne letztere zu zersetzen. Man giesst die durch Eingiessen des ätherischen Extraktes in Alkohol und nachheriges Verdunsten des Aethers bei gewöhnlicher Temperatur erhaltene alkoholische Lösung von dem Ungelösten ab, gibt dann neuen Alkohol von 95% zu dem Rückstande und lässt längere Zeit bei 40—50° stehen. Hat sich der Alkohol bei dieser Temperatur mit Cholesterin gesättigt, so krystallisirt dieses beim Erkalten wieder fast völlig in beinahe reinen Blättern heraus, während das in Alkohol Unlösliche sich als gelb-bräunlicher Bodensatz mit dem ungelösten Cholesterin ansammelt. Nach sehr oft wiederholter Behandlung dieses Bodensatzes mit erneutem Alkoho von 95% bei 40—50° wird das Letztere fast vollständig entfernt und man erzielt allerdings mit Aufwand von sehr viel Alkohol eine Trennung in: 1. Cholesterin, 2. einen in Alkohol bei gewöhnlicher Temperatur und 0° nicht löslichen und 3. einen in Alkohol leicht löslichen Extrakt.

Nr. 1 ist schon besprochen, Nr. 2 ist zum Theil wieder

---

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1872, S. 1075.

in Aether löslich, zum Theil nicht. Es ist P-haltig und der in Aether nicht lösliche Theil besteht wesentlich aus Unorganischem. Es wurde bis jetzt nicht näher untersucht. Nr. 3 die alkoholischen, gelb gefärbten Auszuge lässt man in flachen Schaalen bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur verdunsten. Ist der Alkohol fort, so bleibt eine röthlich-gelbe, ölig-schmierige Masse, die mit grossen Cholesterinkrystallen durchsetzt ist, zurück. Man rührt dieselbe mit wenig Alkohol von 85% bei 40° an, wodurch sich nur das Oel löst, filtrirt wieder über Glaswolle von den ungelösten Krystallen ab und verdunstet den Alkohol bei 40°. Hat man diese Operation des Lösens in 85 procent. Alkohol und Verdunsten des Filtrats noch 1 oder 2mal wiederholt, so bleibt in der Regel bei einer ferneren Wiederholung das Oel völlig klar und es scheidet sich in der alkoholischen Lösung auch beim Abkühlen unter 0° keine Spur von Cholesterin mehr ab.

Ein anderer Weg, um das frei herauskrystallisirende Cholesterin zu entfernen, ist der, dass man den ölig-schmierigen Rückstand bei 40° in möglichst wenig absolutem Alkohol löst und dann einer Temperatur wenig unter 0° während wenigstens 24 Stunden aussetzt. Wenn man dann bei wenig unter 0° die ausgeschiedenen Cholesterin-Krystalle abfiltrirt, mit Alkohol bei gleicher Temperatur nachwäscht und allen Alkohol bei 40° wieder abdunsten lässt, so werden in der Regel bei einer zweiten Wiederholung dieser Operationen mit dem Rückstande keine Cholesterin-Ausscheidungen mehr beobachtet. Die dritte beseitigt es sicher.

Wenn man aber die ölige gelbe Masse, nachdem kein Cholesterin mehr auf ein oder dem anderen Wege auskrystallisirt mit weingeistigem Kali verseift, den Alkohol von der Seifenlösung verjagt und die wässerige Lösung mit Aether ausschüttelt, so werden auf's Neue grosse Mengen von Cholesterin erhalten. Ein Fingerzeig, wie mir scheint, dass neben freiem Cholesterin auch eine Verbindung desselben im Aetherextrakte des Gehirnes vorkommen muss. Ein solches Vorkommen ist von E. Schulze[1]) auch im Wollfett nachgewiesen; allerdings

[1]) L. cit.

dort in dem in Weingeist unlöslichen Theile des Wollfettes.

Welcher Natur diese Cholesterin-Verbindung ist, entzieht sich bis jetzt noch unserer Kenntniss. Ich vermuthete, dass es eine Oelsäure-Verbindung sei, denn die mit Salzsäure zersetzte Kaliseife gab bedeutende Mengen Oelsäure. Jedoch konnte ich bis jetzt keinen Oelsäure-Cholesterin-Aether aus dem Oele isoliren, der identisch gewesen wäre mit dem von mir synthetisch aus Oelsäure und Cholesterin durch Erhitzen im Rohre auf 200° dargestellten.

Ich hoffte aus dem vom nicht gebundenen Cholesterin befreiten Extrakte durch Abkühlen der ganz concentrirten alkoholischen Lösung auf eine sehr niedere Temperatur Lecithin zu gewinnen. Aber wenn sich auch bei 24stündigem Stehen bei — 7° bis — 10° reichliche Krystallisationen von eigenthümlich körniger Beschaffenheit bildeten und diese auch leicht durch wiederholtes Lösen bei niederer Temperatur in absolutem Alkohol und Abkühlen auf — 10° ganz weiss und anscheinend nach der mikroskopischen Untersuchung in gleichmässiger Krystallisation zu erhalten waren, so ergab doch die P-Bestimmung so niedere Zahlen, dass an Lecithin gar nicht zu denken war. Es wurden in der über Schwefelsäure getrockneten Substanz bei drei verschiedenen Darstellungen gefunden:

P = 1,4539%
1,5309 «
1,6131 «
Lecithin erfordert P = 3,99 %.

Da hier übereinstimmende Zahlen gefunden waren, wurde auch die Bestimmung von C und H versucht. Auch diese ergaben fast gleiche Resultate von 2 verschiedenen Darstellungen:

C = 71,99% 72,19%
H = 11,88 « 11,57 «
Lecithin erfordert C = 64,86%
H = 11,45 «

Bei weiteren Versuchen aber durch Umkrystallisiren aus Alkohol bei nicht ganz so niederer Temperatur, wie bisher

möglich war, diese Substanz in noch reinerer Form zu erhalten, zerlegte sie sich jedesmal und lieferte theils in Alkohol, theils nur in Aether lösliche Zersetzungsprodukte.

Jedenfalls ist der Aetherextrakt zu trennen in einen bei sehr niederer Temperatur krystallisirenden Theil und einen dabei nicht krystallisirenden. Die eingehende Erforschung dieser Substanzen erfordert aber eine sehr niedere und vor Allem anhaltende Winterkälte. Durch künstliche Abkühlung kann man nicht hoffen etwas zu erreichen, da auch alle Filtrationen, die sehr langsam vor sich gehen, bei niederster Temperatur vorgenommen werden müssen.

Dass aber in diesem Extrakte ausser Lecithin und dem fraglichen Cholesterinäther noch anderweite uns vielleicht noch unbekannte Verbindungen in nicht geringer Menge vorhanden sind, zeigte eine quantitative Untersuchung von Substanzen verschiedener Darstellung.

Dieselben lieferten nach dem Verseifen Cholesterin a und nach dem Verbrennen mit Soda und Salpeter Phosphor b.

	a	b
I	= 13,0716 %	= 2,3345 %
II	= 14,2232 «	= 1,9641 «
III	= 22,6447 «	= 1,8723 «
IV	= 22,0982 «	= 1,9013 «

I und II stammen von 2 verschiedenen ganzen Gehirnen: III und IV von ein und demselben und zwar enthält III vorwiegend weisse Substanz, IV dagegen vorwiegend graue.

Wenn auch die einzelnen Gehirne ganz verschieden zusammengesetzte Extrakte liefern, so scheint doch in ein und demselben der gleiche Extrakt aus grauer und weisser Substanz erhalten worden zu sein. Wenn wir aber den Phosphor im Lecithin annehmen, der Verbindung, welche von den bekannten den höchsten P-Gehalt besitzt, und das Cholesterin als Oelsäure-Aether in Rechnung setzen — also zwei Verbindungen darin annehmen von hohem Molekulargewicht, so ergiebt sich gegen den Gesammtextrakt immer noch eine beträchtliche Differenz.

	Lecithin	Cholesterin	Differenz gegen 100°.
I	22,3858	58,5131	19,1011
II	24,2558	49,2263	27,4179
III	38,8568	46,9272	14,2160
IV	37,8409	47,6540	14,5051

Zu bemerken ist noch, dass bis zum Ende der Versuche der Aetherextrakt immer eine völlig neutrale Reaction bewahrt hatte und dass mit ihm durchgeschütteltes kaltes Wasser durchaus keine Säure aufgenommen hatte.

Das Studium des ätherischen Gehirnextraktes wird sich vorwiegend diesem Theile desselben zuzuwenden haben. Wenn man den von mir bei dieser ganzen Untersuchung befolgten Grundsätzen aber folgen will, so ist auch hier nur weiter zu arbeiten, wenn ein kalter Winter uns unterstützt. Material zur Fortsetzung derselben bei günstiger Gelegenheit habe ich genügend gesammelt.

Alkoholextrakt bei 45° erhalten.

Der Alkoholextrakt bei 45° erhalten lieferte nur eine einzige Substanz: nämlich den von Liebreich Protagon [1]) genannten Körper der, nach dem Vorgange von Diakonow auch von Hoppe-Seyler als ein Gemenge von einer glycosidartigen Cerebrin genannten Verbindung mit Lecithin angesehen wird. Ich muss mich in Folge der bei dieser Untersuchung gemachten Beobachtungen mit Liebreich und Blankenhorn & Gamgee für die Ansicht erklären, dass es eine einheitliche phosphorhaltige Verbindung ist, welche bei passender Behandlung die Zersetzungsprodukte des Lecithin neben Cerebrin liefert, und kein mit Lecithin verunreinigtes Cerebrin. Dieselbe hat aber im ganz reinen Zustande nicht die von Liebreich gefundene Zusammensetzung, sondern dieselbe entspricht den von Blankenhorn & Gamgee [2]) ermittelten Zahlen. Die nach meiner Methode dargestellte Substanz zeigt alle Eigenschaften, wie sie von den beiden letztgenannten Untersuchern angegeben werden, und die Zahlen meiner Analysen fallen mit denen dieser Autoren ganz zusammen.

---

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 134, S. 29.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 260.

Dieselben stellten ihr Protagon aus Ochsenhirn dar, durch Extrahiren desselben im feuchten Zustande, nachdem es entweder vorher mit Aether behandelt worden oder auch nicht, mit Alkohol von 85 % bei 45° und Erschöpfen des beim Erkalten gewonnenen Niederschlages mit Aether. Wiederholtes Umkrystallisiren aus Alkohol bei 45° und Waschen der einzelnen Krystallisationen mit Aether lieferte das Material zu den Analysen.

Ich erschöpfte möglichst vor postmortaler Zersetzung bewahrtes Pferdehirn mit Aether, befreite dasselbe zugleich vom Wasserextrakte, trocknete den Rückstand successive bei gewöhnlicher Temperatur in immer stärkerem, endlich in absolutem Alkohol ganz aus und entzog dann dem trockenen Rückstande erst durch Alkohol von 85 % bei 45° die Verbindung. Der so gewonnene Auszug gab sowohl bei Zimmertemperatur dieselbe Verbindung, wie auch die Mutterlauge von dieser beim Abkühlen unter 0°. Die weitere Behandlung der gewonnenen Substanz war dieselbe wie die vorige.

Dieselbe ist in warmem Alkohol leicht, in kaltem schwer löslich und krystallisirt aus diesen Lösungen je nach der Concentration derselben und der Schnelligkeit der Abkühlung bald in rosettenartig vereinigten mikroskopischen, bald in grossen gekrümmten fast makroskopischen Nadeln. Dieselben sind mitunter derartig zu kompakten Kugeln vereinigt, dass nur der äusserste Rand derselben die Spitzen der Krystalle erkennen lässt. Mitunter bilden die grösseren Krystalle ein dichtes Gewirr von Nadeln, die unregelmässig durcheinander liegen, oder sie sind, wenn man auf einem Objectträger auskrystallisiren lässt, von einer Mittelrippe ausgehend, nach beiden Seiten so geordnet, dass sie völlig das Aussehen von gekräuselten Straussfedern darbieten.

Niemals darf eine solche Krystallisation knollige, durchsichtige Gebilde zeigen mit völlig glatten Conturen. Sind diese vorhanden, so muss man den Gedanken, sie in die Nadeln wieder überzuführen oder dieselben durch Umkrystallisiren aus Alkohol zu entfernen, aufgeben. Dieselben gehören den Zersetzungsprodukten des Protagon an, welche in der Wärme

durch Alkalien aus denselben gewonnen werden: sie sind das sogenannte Cerebrin oder Vorstufen dazu. Auch Liebreich macht in seiner schon citirten Abhandlung auf sie aufmerksam. Unter dem Mikroskope kann man die Letzteren von etwaigen kugligen Agregaten des Protagon noch dadurch leicht unterscheiden, dass sie durch Druck unter dem Deckglase in scheibenartige Gebilde zerquetscht werden, während Protagon unter gleichen Verhältnissen in Nadeln zerfällt. Ist diese Zersetzung eingetreten, so erstarren die alkoholischen Lösungen häufig beim Erkalten wie Stärkekleister.

Ferner darf eine alkoholische Lösung, wenn sie auch beim Erkalten nur Nadeln liefert, niemals das Bestreben zeigen zu gelatiniren, wie es schon oft beobachtet worden. Parcus[1]) beschreibt als mit dieser Eigenschaft begabt sein Homocerebrin und Enkephalin. Ist diese Erscheinung wahrnehmbar, dann ist das Protagon nicht mehr rein zu erhalten, denn es ist diejenige Zersetzung wohl zum Theil schon eingetreten, wie sie durch Säuren im Cerebrin hervorgerufen wird, und es hat sich vielleicht schon das von Geoghegan[2]) beschriebene Cetylid gebildet oder zu bilden angefangen.

Die letztere Erscheinung beobachtet man seltener als die erstere.

In Aether löst sich das Protagon, besonders in der Wärme, und krystallisirt in feinen Nadeln wieder aus. Aus Alkohol krystallisirt und, nachdem es zwischen Papier gu abgepresst worden, über SH_2O_4 getrocknet, bildet es ein lockeres weisses Pulver, das durchaus nicht hygroscopisch ist. Mitunter jedoch erhält man zuerst wachsartige zusammenhängende Stücke, die sich aber leicht zu einem zarten Pulver zerdrücken und reiben lassen, ähnlich wie die Masse guter Stearinlichter. Gegen Wasser und Salzlösungen verhält sich die Substanz genau so, wie es Liebreich beschreibt.

Ueber Schwefelsäure getrocknet verliert sie gegen 100° nicht am Gewicht und lässt sich tagelang an der Luft auf einer Temperatur erhalten, wie sie die mit Dampf geheizten

---

1) Journal für praktische Chemie, Bd. 24, S. 310.

2) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 332.

Trockenschränke besitzen, ohne eine Veränderung zu zeigen. Bei 100° dagegen (im mit kochendem Wasser erhitzten Trockenschranke) färbt sie sich langsam gelblich und unter allmäliger Zersetzung sinkt der Schmelzpunkt.

Zur Ermittelung dieses im SH_2O_4-Bade im Capillarrohre erhitzt, wird sie schwachgelb über 150°, schmilzt erst bei 200°, fängt an zu sieden unter Bräunung über 220°.

Die Analysen ergaben bei der Verbrennung mit CuO mit vorgelegtem metallischen Cu im O-Strome:

I Substanz = 0,2475 gr. CO_2 = 0,6038 = C 0,1647
1 mal umkrystallisirt H_2O = 0,2448 = H 0,0272
II Substanz = 0,2620 gr. CO_2 = 0,6369 = C 0,1737
1 mal umkrystallisirt H_2O = 0,2597 = H 0,0289
III Substanz = 0,3055 gr. CO_2 = 0,7476 = C 0,2039
2 mal umkrystallisirt H_2O = 0 3005 = H 0,0334
IV Substanz = 0,2195 gr. CO_2 = 0,5357 = C 0,1461
4 mal umkrystallisirt H_2O = 0,2215 = H 0,0245

Die volumetrische Stickstoffbestimmung ergab:

I Substanz = 0,6472 gr., cbcm. N = 12,5
B = 763,4, Temp. = 14° C.
IV Substanz = 0,7125 gr., cbcm, N = 14,5
B = 765,7, Temp. = 18° C.

Die Phosphorbestimmung nach dem Verbrennen mit Soda und Salpeter ergab:

I Substanz = 0,3987 gr. $P_2Mg_2O_7$ = 0,0150
P = 0,0042
III Substanz = 0 3785 gr. $P_2Mg_2O_7$ = 0,0147
P = 0,0041
IV Substanz = 0,4235 gr. $P_2Mg_2O_7$ = 0,0161
P = 0,0045

Daraus ergiebt sich:

Liebreich		I	II	III	IV	Blankenhorn & Gamgee.
67,3	C	66,54	66,29	66,74	66,56	66,39
11,7	H	10,99	11,03	10,93	11,16	10,69
2,83	N	2,28	—	—	2,42	2,39
1,23	P	1,0534	—	1,0823	1,0626	1,068

Ganz die gleichen Angaben über Löslichkeit, Krystallform und Schmelzpunkt, wie ich sie angegeben, machen auch

Blankenhorn & Gamgee in der citirten Abhandlung. Auch ihre analytischen Resultate fallen, wie obiger Vergleich zeigt, mit meinen zusammen.

Diese Gleichartigkeit der Ergebnisse, zu denen wir auf verschiedenem Wege gelangt, spricht dafür, dass wir es mit derselben chemischen Verbindung zu thun gehabt haben.

Wenn nun auch die genannten beiden Autoren in der citirten Abhandlung die anderweiten Arbeiten über diesen Gegenstand einer eingehenden Kritik unterziehen, so sei es mir nur gestattet, Einiges über und gegen die Gründe anzuführen, die die zu einem massgebenden Urtheil am meisten berufenen Forscher auf diesem Gebiete — Diakonow und Hoppe-Seyler — bewogen, für die Nichtexistenz des Protagon sich zu entscheiden.

Dass das Lecithin mit anderen Substanzen Verbindungen eingeht, hat Hoppe-Seyler[1]) an dem Vitellin des Eidotters selbst gezeigt, das, ohne sich wesentlich zu verändern, kein Lecithin liefert. Er stellt allerdings diese Angabe wieder in Frage in einer Anmerkung zu dem Abdrucke der Abhandlung von Blankenhorn & Gamgee[2]), in der er diese Verbindung des Vitellins mit Lecithin als nicht sicher gestellt bezeichnet. Dagegen sagt er später wieder[3]): «Aus den Dotterplättchen wird durch heissen Alkohol Lecithin entzogen. Nachdem dann der dadurch frei gewordene Eiweissstoff charakterisirt ist, fährt er fort: «ob derselbe in den Dotterplättcheu und den grossen Dotterkugeln mit dem Nuclein und Lecithin in chemischer Verbindung sich befindet, ist nicht ausgemacht, jedenfalls ist das Lecithin durch Schütteln und Waschen mit Aether allein nicht vollständig zu entfernen, wenn auch beim Schütteln von Eidotter mit viel Aether ein grosser Theil von Lecithin in die ätherische Lösung übergeht.» Nachdem dann ferner Valenciennes und Frémy's Ichthin, Ichthidin und Emydin als nach ihrer Darstellung nicht rein und unverändert anzusehende chemische

---

[1]) Medicinisch-chemische Untersuchungen 1866, S. 215.

[2]) L. cit.

[3]) Physiologische Chemie, S. 779.

Körper bezeichnet werden, heisst es weiter: «aber es würde sich auch noch nicht angeben lassen, wie man die Vitelline, Nuclein und Lecithin trennen oder den Nachweis führen soll, dass sie selbst erst Zersetzungsprodukte complicirter Stoffe wären. Es ist gar nicht unwahrscheinlich, dass die Behandlung mit Aether und mit Wasser schon hinreicht, Zersetzung herbeizuführen.»

Ferner sagt Hoppe-Seyler[1]): «In den Dotterkugeln und Dotterkrystallen ist stets mit ihnen (den Vitellinen) in lockerer Verbindung oder neben ihnen enthalten Lecithin und Nuclein, deren Abtrennung ohne chemische Aenderung der Vitelline noch nicht gelungen ist.» Danach lässt er die Frage offen, ob eine chemische Verbindung der beiden Componenten Lecithin und Eiweiss im Vitellin vorliege, da dies nicht bewiesen ist; aber er erklärt selbst, dass eine Loslösung des Lecithin nur mit einer Veränderung des Vitellins zu erreichen sei.

Das heisst mit anderen Worten: «Wir sind nicht berechtigt, das Vitellin als chemische Verbindung zu betrachten, da es so wenig prononcirte Eigenschaften besitzt, trotzdem wir aus ihm zwei ganz heterogene sehr wohl charakterisirte Verbindungen immer abscheiden können.

Stehen wir den eiweissabspaltenden sogenannten Nucleinen anders gegenüber? Wie lange sind eiweissabspaltende P-haltige Verbindungen als verunreinigte Eiweisskörper aufgefasst worden.

Wir haben ferner auch ganz analoge Verhältnisse im Gehirne mit dem Protagon.

Sonderbar ist es, dass immer die P-haltigen Verbindungen diese zweifelhaften, lockeren Anlagerungen bewirken: drängt sich dadurch der Phosphor in den Lebensprozess ein und wird diese Erscheinung bewirkt durch die Dreibasicität der Phosphorsäure?

Im Ei, dem Gehirn, dem Sperma, der Milch, dem Eiter,

---

[1]) Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 5. Aufl. 1883, S. 272.

den Blutkörperchen begegnen wir diesen Verbindungen vorwiegend.

Aus der Milch ist das Nuclein-Casein noch nicht krystallisirt dargestellt, ebensowenig die Nucleine der Eiter und Blutzellen, des Spermas oder von anderen Orten. Aber ebenso wie wir aus dem Ei durch Extraktion und Schlämmen den krystallisirten P-haltigen Körper gewinnen können, auf ganz ähnliche Weise vermögen wir denselben aus dem Gehirne, dem Sperma, dem Eiter durch Extraktion und vorsichtige Beseitigung der ihn verdeckenden Substanzen zu isoliren.

Dass man die krystallisirte Substanz des Eidotters schon vor der Isolirung mikroskopisch beobachten kann, die anderen nicht, fällt meiner Ansicht nach nicht sehr in's Gewicht.

Diese Körper geben alle, wenn man sie derartig behandelt, dass sie zerfallen — und das geschieht sehr leicht, sobald sie nicht ganz rein dargestellt werden — Lecithin und ferner eine den Eiweisskörpern oder vielleicht eine den Kohlehydraten sich anreihende Verbindung.

Damit ist durchaus nicht ausgeschlossen, dass sich daneben nicht auch freies Lecithin an den betreffenden Orten findet. Gerade umgekehrt, wie ich Andeutungen dafür gefunden zu haben glaube, dass nicht alles Cholesterin frei, sondern auch ein nicht geringer Theil gebunden im Gehirne vorhanden ist.

Diakonow, der Liebreich's Protagon direkt für ein Gemenge erklärte, ging seiner Zeit noch weiter, indem er sagt[1]: «Ich will nicht behaupten, dass das Lecithin im Gehirne, wie im Eidotter im freiem Zustande sich befindet; ich finde aber auch keine Thatsache, welche eine chemische Verbindung des Lecithins mit dem Glycosid des Gehirns beweisen würde.»

Ich führe diese Auszüge nur an, um zu zeigen, dass theoretisehc Erörterungen hier am allerwenigsten zum Ziele führen können, da die beiden Hauptautoritäten in Bezug auf

[2]) Medicinisches Centralblatt 1868, S. 99.

das freie oder gebundene Vorkommen des Lecithins in diesem Punkt selbst schwankend sind.

Es ist also die Frage, wo finden wir die Thatsachen, die Diakonow vermisst, welche als positive Beweismittel für das Eine oder das Andere dienen können.

Ein wesentliches Moment, das Hoppe-Seyler gegen die Existenz des Protagon anführt, ist folgendes:

Cerebrin[1]) reisst, wie viele andere Stoffe bei ihrer festen Abscheidung aus einer Lösung, beim Auskrystallisiren Lecithin mit nieder und liefert ein P-haltiges Cerebrin. Diese Thatsache, auf die zuerst von Diakonow aufmerksam gemacht worden ist, würde allerdings gegen die Einheitlichkeit des Protagon sprechen, wenn bewiesen wäre, dass das Produkt dieser Addition immer die gleiche Zusammensetzung hätte, gleich krystallisirte nnd den gleichen Schmelzpunkt zeigte wie das Protagon, oder dass man aus einem auf diese Weise gewonnenen Rohprodukt durch genügend vorsichtiges Umkrystallisiren ein dem Protagon gleiches Gemenge isoliren könne.

Wenn diese Bedingungen sich erfüllten, so würde man dadurch aber gerade Etwas erhalten haben, dessen immer wiederkehrende Eigenschaften den Gedanken eher an eine Verbindung zwischen Lecithin und Cerebrin als an eine mechanische Mengung beider aufkommen liesse.

Die physikalischen Eigenschaften der Substanz, die wir Protagon nennen, sind aber derart constante bei den verschiedensten Darstellungen, wenn man nur bei genügender Vorsicht die Reinigung des Rohproduktes bis zu Ende durchführt, dass Letzteres der Fall ist.

Ferner führen Diakonow und Hoppe-Seyler als Grund für ihre Ansicht an, dass man niemals eine Verbindung von constantem P-Gehalt beim Umkrystallisiren erhalten könne.

Diakonow, der sagt: «das von Liebreich beschriebene Protagon ist meiner Ansicht nach ein ganz P-freier Körper, dessen P-Gehalt nur auf einer Verunreinigung mit Lecithin

---

[1]) Hoppe-Seyler: Medicinisch-chemische Untersuchungen, Bd. V, S. 486.

beruht», stützt sich dabei auf Liebreich's Formel mit 1,50 % P und darauf, dass durch Extraktion mit Aether leicht in nach Liebreich's Methode dargestelltem Protagon der P auf 1,02 % herabgebracht werden könne.

Ich führe dies, obgleich es schon von Blankenhorn & Gamgee hervorgehoben, wieder an, da auch ich das Liebreich'sche Protagon als ein nicht reines Produkt ansehe, aus dem man die verunreinigenden P-haltigen Verbindungen durch Aether entfernen kann. Ist das erreicht, und das ist nach Diakonow bei 1,0217 % P, nach Blankenhorn & Gamgee bei 1,068 % P, nach meinen Analysen bei 1,0562 % P der Fall, dann ist ein Körper zurückgeblieben, der den P so fest gebunden enthält, dass es tiefer eingreifender Reactionen bedarf, um ihn zu entziehen.

Dahin gehört aber schon das nicht mit äusserster Vorsicht ausgeführte Umkrystallisiren z. B. aus zu starkem Alkohol oder bei zu hoher Temperatur. Ferner gehört dahin das längere Kochen mit Aether. Dadurch wird, wie Blankenhorn & Gamgee schon gezeigt haben und wie ich an meinen Präparaten bestätigt gefunden, das Protagon zersetzt.

Das von mir dargestellte Protagon löst sich unverändert in Aether (schwer in kaltem, leicht in warmem) und krystallisirt daraus in feinen Nadeln, die, wenn sie getrocknet sind, ein lockeres weisses Pulver bilden. Kocht man aber mit dem Aether längere Zeit, so erhält man beim Erkalten ebenfalls Nadeln; dieselben geben aber im getrockneten Zustande eine mehr oder weniger zusammenklebende Masse, die sich allerdings auch, aber verhältnissmässig schwierig, zu einem zarten Pulver zerreiben lässt.

Der Schmelzpunkt blieb fast derselbe, aber es zeigte sich, je länger gekocht wurde, eine um so stärkere Bräunung bei 170° und zugleich schien die Schmelzprobe bei 150° oder auch schon darunter zusammen zu sintern.

Beide Erscheinungen beobachtet man bei reinem Protagon nicht.

Der P-Gehalt sank zugleich mit der längeren Einwirkung des kochenden Aethers. So erhielt ich aus einem Präparate von tadelloser Krystallisation P %:

= 1,0286;

Nach einmaligem Umkrystallisiren aus Aether nach raschem Lösen:

= 1,0378;

Nach mehrmaligem raschen Umkrystallisiren:

= 1,0098;

Nach 3stündigem Kochen mit Aether am Rückflusskühler:

= 0,9286;

Nach je weiteren 3 Stunden:

= 0,8198
= 0,7737
= 0,6831
= 0,6094.

Wendet man warmen Alkohol an, besonders wenn man 50° überschreitet, dann ist diese Zersetzung noch leichter zu beobachten und rascher weiterzuführen als mit kochendem Aether, wo constant die Temperatur von 40° nicht überschritten wird. Ich wandte nur mit Wasser, Chlorcalcium und Natrium gereinigten Aether zu den vorigen Versuchen an. Nimmt man gewöhnlichen käuflichen, so wird viel leichter Zersetzung beim Kochen hervorgerufen. Niemals aber kann man hierbei, oder durch Umkrystallisiren aus Alkohol, wie auch schon Hoppe-Seyler[1]) erwähnt, allen P vollständig entfernen, trotzdem das Lecithin doch so leicht schon in kaltem Alkohol und Aether löslich ist.

Ich dachte nun zunächst daran, ob es nicht möglich wäre, irgend ein Lösungsmittel zu finden, das entweder, wenn Protagon und Cerebrin selbstständige Verbindungen wären, das Eine löste und das Andere nicht, oder wenn Protagon nur mit Lecithin verunreinigtes Cerebrin wäre, das Erstere glatt aufnehme und das Letztere ungelöst lasse.

Aber alle bisherigen Versuche haben nichts ergeben, was zu einem unanfechtbaren Schlusse berechtigte. Die Lösungsmittel konnten natürlich nur in der Kälte angewendet

---

[1]) L cit., S. 487.

werden, sollten sie Beweiskraft haben, und mussten leicht flüchtig sein.

Schwefelkohlenstoff, Petroleumäther, Benzol, Chloroform lösten alle mehr oder weniger von beiden Substanzen auf. Wurden die nach dem Verdunsten bleibenden Rückstände aber aus wenig warmem Alkohol zum Krystallisiren gebracht, so erhielt man in einem Falle die Formen des Protagon, im anderen die des Cerebrin.

Wenn man dem Verhalten gegen Alkohol und Aether keine Beweiskraft beilegt, so darf man es hier also auch nicht, und deshalb gab ich diese Versuche auf.

Dass eine anderweite energischere Behandlung des Protagon als die vorigen, wie sie z. B. auch von Diakonow angewandt worden, natürlich noch weitere Zersetzung und Abspaltung von P bedingt und man schliesslich dadurch ein P-freies Cerebrin erhält, ist eigentlich selbstverständlich und kann nicht als Beweis gegen die Existenzfähigkeit des Protagons dienen.

Hoppe-Seyler[1]) theilt mit, dass er aus dem nach Extraktion mit kaltem Weingeist und öfterer Behandlung mit Aether bleibenden Rückstande der Eiterkörperchen mit heissem Alkohol ein Cerebrin ausgezogen habe, dessen erste beim Erkalten des Alkohols ausfallende Portion 1,022 % P, die zweite dann 0,991 % P enthielt. Der Rest durch Eindampfen bei 60° aus der Mutterlauge gewonnen ergab 1,502 % P.

Die ersten beiden Portionen krystallisirten deutlich in Nadeln und enthielten annähernd so viel P als das Protagon nach Blankenhorn & Gamgee und meinen Analysen.

Der Rest stellte eine amorphe etwas klebrige Masse dar, deren P-Gehalt nahe dem des Liebreich'schen Protagon liegt.

Diese Erscheinungen habe ich auch öfter beim Gehirne zu beobachten Gelegenheit gehabt, als es mir im Anfange dieser Untersuchung noch nicht gelang, vor der Extraktion des Protagons völlige Erschöpfung mit Aether zu erzielen. Nachdem dies aber durch die Diffusions-Extraktion gelungen war, lieferte die Mutterlauge von dem durch 85 % Weingeist bei 45° gewonnenen Protagon, nachdem dieselbe durch Ab-

[1]) Medicinisch-chemische Untersuchungen, Bd. IV, S. 488.

kühlen mit Kochsalz und Eis von dem letzten Krystallisirenden befreit worden, beim Eindampfen nur ausserordentlich geringe Mengen eines bröckligen Rückstandes. Derselbe enthielt nach verschiedenen Bestimmungen allerdings immer mehr P als Protagon (1,099—1,307 %), rührte aber sicher nur von Spuren noch beigemengter Verunreinigungen, nicht von durch Behandlung mit Alkohol in der Wärme zersetztem Protagon her, denn jedes folgende Umkrystallisiren desselben lieferte immer weniger von diesem Rückstande.

Eine fernere Frage ist aber die: Ist das Protagon des Eiters identisch mit dem des Gehirnes oder eine diesem nur ähnliche Verbindung?

Für Letzteres spricht die Angabe Hoppe-Seyler's, dass er daraus ein Cerebrin, d. h. eine glycosidartige Substanz, isolirte, deren N-Gehalt durch Kochen mit Barytwasser niemals ganz zu beseitigen war und nur 1,9 % betrug, während Müller 4,55 % und wiederum Bourgoin 2,29 %, Geoghegan 1,44 % im Gehirn-Cerebrin fanden. Dann, was das Bemerkenswertheste ist, erhielt Hoppe-Seyler beim Zersetzen des Eiter-Cerebrin neben Zucker nur ölige nicht krystallisirende Körper, während bei gleicher Behandlung des Gehirn-Cerebrin gut krystallisirende Verbindungen neben der reducirenden Substanz erhalten wurden.

In dem Vorigen habe ich die beiden Gründe, die gegen die Existenz des Protagon angeführt werden, besprochen. Es wäre noch ein weiterer Beweis für die Richtigkeit dieser Ansicht und das freie Vorkommen des Lecithin gegeben, wenn man mit einiger Leichtigkeit Lecithin frei aus dem Gehirn gewinnen könnte, wie z. B. das Cholesterin. Dasselbe ist aber nur einmal von Diakonow[1]) aus dem Gehirne dargestellt und zwar auf dieselbe Weise wie aus dem Eidotter, indem es dort zunächst mit dem Vitellin, hier mit dem Cerebrin oder Protagon isolirt und dann erst diesem Gemenge durch Lösungsmittel entzogen wird. Doch lieferte das so gewonnene Material bei den Analysen für P und N nur wenig befriedigende Resultate.

---

[1]) Medicinisches Centralblatt 1868.

Zunächst also widersteht nach diesem Verfahren das Lecithin der Extraktion mit Aether, denn diese geht der Abscheidung des Vitellin und des Protagon voran; wenn man aber das Vitellin mit Wasser gefällt oder das Protagon mit Alkohol bei 40° isolirt hat, dann kann man beiden das Lecithin entziehen, einmal mit Alkohol bei 50—60° dem Vitellin, im anderen Falle dem Protagon durch Aether von gewöhnlicher Temperatur.

Danach müsste man annehmen, das Eiweiss des Vitellin oder das Cerebrin des Protagon vermöge das Lecithin gewissermassen conservirend auf sich niederzuschlagen und dadurch, trotzdem es etwas ganz Heterogenes, als eine Verunreinigung also, vor weiterer Zersetzung zu bewahren.

Ich glaube, man könnte auch folgendermassen argumentiren und nach diesem Gedankengange der Sache nachforschen:

Das Lecithin findet sich immer in innigster Wechselbeziehung zu anderen Verbindungen in den Flüssigkeiten, in denen es vorkommt. Es geht mit verschiedenen zum Lebensprocess nothwendigen Stoffen Verbindungen ein von wechselndem Molecularverhältnisse. Je mehr Molecüle Lecithin in diese Verbindungen eingetreten sind, um so leichter zersetzbar sind dieselben, je weniger, um so stabiler. Für jede solche Verbindungsmöglichkeit wird es eine Grenzverbindung geben, bei der die leichteste Zerfallbarkeit aufhört: das ist im Gehirn bei dem Protagon der Fall, im Eidotter bei den Krystalloiden desselben. Da wo wir bis jetzt das Lecithin nur aus seinem Zersetzungsprodukte nachweisen können, haben wir noch nicht gelernt, die betreffenden Verbindungen desselben zu isoliren.

Wir könnten dann vielleicht auf die Strecker'sche Constitutions-Formel des Lecithin zurückgehen, nach der er es erklärlich findet, dass dasselbe eine Säure, eine Base und ein Fett sein kann.[1]) Auch Hundeshagen's[2]) Untersuchungen sprechen für die Wahrscheinlichkeit derselben.

---

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 148, S. 98.

[2]) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 28, S. 244.

Was wäre aber ausser der Uebereinstimmung von Zusammensetzung und Eigenschaften der auf verschiedenem Wege erhaltenen Präparate noch weiter zu Gunsten der Einheitlichkeit des Protagon anzuführen?

Um diese Frage beantworten zu können, müssen wir zunächst untersuchen, was eigentlich Cerebrin ist.

Als solches werden gewisse phosphorfreie glycosidartige Verbindungen bezeichnet, die man durch Kochen der Gehirnmasse mit Barytwasser, Ausziehen des resultirenden Coagulums mit heissem Alkohol und Reinigen des gewonnenen Produktes mit Aether darstellen kann.

Als solche Verbindung werden aber, ohne dass eine Beziehung zwischen den einzelnen bis jetzt ermittelt, eine ganze Reihe beschrieben.

In der vierten Auflage S. 195 von Hoppe-Seyler's Handbuch der physiol.-patholog. Analyse wird als Cerebrin angeführt nach Müller[1]) eine Verbindung mit 4,50% N, welche sich über 80° bräunt, bei stärkerem Erhitzen schmilzt und sich unter Aufschäumen zerlegt. In der 5. Auflage S. 127 wird, ohne Müller's Cerebrin zu erwähnen, als solches nach Geoghegan[2]) eine Verbindung mit 1,44% N beschrieben, deren Eigenschaften mit den in der 4. Auflage angegebenen übereinstimmen, mit der Ausnahme, dass des Bräunens über 80° nicht Erwähnung geschieht. Geoghegan verweist l. c. in Bezug auf die Eigenschaften ganz auf die 4. Auflage. Daneben sind als wahrscheinlich nicht ganz reines Cerebrin erwähnt von Parcus[3]) 1. das Cerebrin mit 2,13% N, 2. das Homocerebrin mit 2,23% N und 3. das Encephalin mit 3,09% N, deren Schmelztemperaturen von demselben über 160°, 155°, 150° angegeben werden bei Zersetzungsanfang bei 145°, 130°, 125°.

Das wäre also eine ganze Reihe von wesentlich verschiedenen Verbindungen, die, auf demselben Wege gewonnen, den Anspruch erheben können, den Namen Cerebrin zu

---

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 105, S. 361.

[2]) Diese Zeitschrift. Bd. III, S. 332.

[3]) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 24, S. 310.

führen, trotzdem die ganze Technik der Darstellung aus dem Rohmateriale eine so überaus einfache ist.

Bei einer früheren Gelegenheit habe ich noch eine solche Vesbindung nach Bourgoin angeführt und Thudichum nimmt sogar eine ganze Gruppe von Cerebrinen im Gehirne an.

Mit welcher von diesen Verbindungen gemengt, giebt Lecithin das Protagon? Welches ist also das wahre Cerebrin und in welcher Beziehung stehen die anderen zu diesem? Ist das Protagon ein solches Gemenge, so muss nach meiner und Blankenhorn & Gamgee's Formel in ihm enthalten sein neben 27 Theilen Lecithin 73 Theile Cerebrin.

Was für die Gehirnmasse gilt, muss dann auch für das Protagon gelten: d. h. man muss durch Behandeln desselben mit Barytwasser Cerebrin daraus darstellen können. Der Versuch ist schon von Liebreich[1]) und Diakonow[2]) gemacht worden. Die gewonnene Verbindung ist aber, wie mir scheint, als identisch mit Müller's Cerebrin angesehen und nicht weiter untersucht worden. Es wird von Letzterem als phosphorfreies Glycosid bezeichnet. Besonders ist aber zu berücksichtigen, dass man entschieden das Cerebrin reiner aus dem Protagon als aus der ganzen Gehirnmasse gewinnen wird.

Ich habe durch Behandeln mit Barytwasser aus meinem reinen Protagon Cerebrin darzustellen versucht und bin dabei bei einiger Modifikation des Verfahrens zu folgenden Erfahrungen gekommen. Die bei dieser Untersuchung bis jetzt gewonnenen analytischen Resultate will ich, als noch nicht unbedingt feststehend, in dieser Abhandlung übergehen, besonders da sie für meine nächsten Zwecke keine wesentliche Bedeutung haben. Ich will nur die physikalischen Eigenschaften der von mir gewonnenen und als mit constanten Eigenschaften begabt erkannten Verbindungen, soweit dieselben von Wichtigkeit für uns sind, berühren.

Wenn man Protagon mit Barytwasser einige Zeit im Wasserbade gegen 100° erwärmt, so erhält man durch Aus-

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 39, 1867.
[2]) Medicinisches Centralblatt 1868, S. 97.

kochen des ungelösten Rückstandes mit Alkohol eine in grossen ovalen Körnern beim Erkalten ausfallende Substanz, die sich unverändert in dieser Form mit kochendem Alkohol umkrystallisiren lässt. Dieselbe ist P-frei und nach mehrmaligem Umkrystallisiren auch aschenfrei. Das Lecithin ist also zersetzt und sie enthält keine Baryumseifen mehr.

Ihr Schmelzpunkt liegt bei 194°. Ehe sie schmilzt, bräunt sie sich über 150° in ganz geringem Grade. Ueber 200° (gegen 220°) fängt sie an zu sieden und sich zu zersetzen.

An der Luft im Wasserbade erhitzt, verhält sie sich genau wie das Protagon. Etwas unter 100° schon zersetzt sie sich unter allmäligem Gelbwerden. Zugleich sinkt der Schmelzpunkt bedeutend.

Wird diese Verbindung mit sehr concentrirtem Barytwasser anhaltend gekocht, so tritt weitere Zersetzung ein. Man erhält schliesslich keine grossen ovalen Körner mehr, sondern kleine runde Kugeln. Dieselben gewinnt man auch durch direktes Kochen des Protagons mit concentrirtem Barytwasser. Sie werden auch durch anhaltendes Kochen mit diesem nicht weiter verändert.

Diese Substanz fängt, ohne sich zu färben, unter 160° an zu erweichen; bei 177° fängt sie an zu schmelzen und ist bei 180° völlig geschmolzen. Auch bei ihr fängt Gasentwickelung erst weit über 200° an.

An der Luft im Wasserbade erhitzt, verträgt sie 100° lange Zeit, ohne sich äusserlich zu verändern. Der Schmelzpunkt wird ebenfalls dadurch nicht geändert.

Beide Verbindungen mit verdünnten Säuren erwärmt, liefern eine stark reducirende Substanz.

Es findet danach also ein allmäliger Uebergang vom Protagon zu einem durch Barytwasser nicht mehr veränderlichen Cerebrin statt, der verbunden ist mit einem Sinken des Schmelzpunktes (200°—194°- 177°), aber mit einer Zunahme der Widerstandsfähigkeit der niedriger schmelzenden Verbindung.

Das Letztere ist nach Müller's und Geoghegan's Angaben bei ihren Cerebrinen nicht der Fall. Danach ist aber um so wahrscheinlicher, dass sie ebenfalls wie die von Parcus dargestellten Verbindungen bei niedrigerer Temperatur schmelzen werden als das Protagon.

Durch die Einwirkung von Barytwasser werden also unter allen Umständen Verbindungen von einem niedrigeren Schmelzpunkte aus dem Protagon erhalten, als dieses selbst besitzt.

Hätten wir es nun im Protagon mit einem Gemenge von 73 Theilen Cerebrin mit 27 Theilen Lecithin zu thun, so wäre doch eher anzunehmen, dass mit der Fortnahme des Letzteren als einer «knetbaren»[1]) Substanz der Schmelzpunkt steigen würde.

Die Zersetzungs- und Schmelztemperatur des Lecithins wird sicher nach seinem sonstigen ganzen Verhalten unter dem Schmelzpunkt 177°, der zweiten von mir aus dem Protagon isolirten Verbindung liegen. Angaben darüber fehlen allerdings gänzlich.

Dann mussten sich schon unter dieser Temperatur die 27% Lecithin im Protagon wesentlich bemerklich machen. Statt dessen sehen wir nur eine geringe Bräunung gegen 150°, die auch noch bei der ersten daraus erhaltenen Verbindung sich zeigt, nachdem das etwa vorhandene Lecithin sicher bereits zerstört worden ist. Ferner verträgt dieser Körper ebensowenig wie das Protagon bei Luftzutritt 100° ohne allmälige Zersetzung zu erleiden.

Der zweite dagegen wird weder bei 150° im Capillarrohr verändert, noch durch tagelanges Erhitzen auf 100° bei Luftzutritt.

Danach kann eine einfache Beseitigung des Lecithins nicht die Bildung des Cerebrins aus dem Protagon hervorrufen. Diese Beseitigung ist mit dem ersten Prozesse, wenn Lecithin überhaupt vorhanden, schon vollendet. Etwas

---

[1]) Hoppe-Seyler: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S. 166.

ist aus dem Protagon fortgenommen, so dass eine nun gegen Alkohol, sowohl was Stärke desselben, als was Temperatur betrifft, resistentere Verbindung entstanden ist. Aus dieser Verbindung wird erst durch weitere Einwirkung des Barythydrats das noch resistentere Cerebrin.

Anzunehmen, dass noch Spaltungsprodukte des Lecithins in der ersten Uebergangsverbindung vorhanden gewesen und durch deren Fortnahme erst die zweite entstanden, ist nicht wohl thunlich. Baryumseifen sind nicht mehr darin, Glycerinphosphorsäure kann nicht mehr vorhanden sein. Beider Abwesenheit ist bewiesen. Also bliebe nur noch das Neurin als einzige Möglichkeit!

Ist aber dieses oder Fettsäure oder Glycerin bei der ersten Verbindung aus dem Protagon trotz des Barythydrats geblieben, so würde diese eigenthümliche Erscheinung wiederum dafür sprechen, dass das etwa vorhandene Lecithin in Verbindung mit Cerebrin und zwar so war, dass seine Componenten nur nach und nach aus dem Protagon losgelöst werden können.

Hierzu ist ferner zu bemerken: Wenn man Protagon mit Barytwasser längere Zeit kocht, die wässrige Lösung abfiltrirt und dem nun bleibenden Gemenge von Cerebrin und Bariumseifen das Erstere mit Alkohol unter 80° entzieht, so erhält man zunächst ein unreines Cerebrin, dem noch ein Theil der Spaltungsprodukte, die bei dem ganzen Processe auftreten, anhaften. Durch diese Beimengungen wird der Schmelzpunkt für die erste Krystallisation weit unter 170° herabgedrückt. Erst die vierte liefert ein Produkt von über 170° Schmelzpunkt. Danach würde das Cerebrin gemengt mit einem kleinen Theile der Zersetzungsprodukte des Lecithin um 40°—50° niedriger schmelzen, als wenn ihm noch das unzersetzte Lecithin beigemengt ist.

Auf einen ferneren Punkt muss ich wieder zurückkommen, obgleich Blankenhorn & Gamgee desselben schon Erwähnung thun. Das Lecithin ist nach Diakonow[1]) ein sehr hygroskopischer Körper. Das Cerebrin ist nach meinen

1) Medicinisches Centralblatt 1868, S. 77.

Erfahrungen entgegen den von Blankenhorn & Gamgee aus Hoppe-Seyler's Handbuch der physiol.-patholog.-chemisch. Analyse 3. Auflage 1869 — (in der fünften Auflage fehlt diese Angabe) — geschöpften Angaben ein durchaus nicht hygroskopischer Körper. Danach würden also auch hier die 73 Theile Cerebrin von den beigemengten 27 Theilen Lecithin nicht beeinflusst, sondern die Eigenschaften des Cerebrin paralisirten wieder völlig die des Lecithin, denn das Protagon ist nach allen Beobachtungen nicht hygroskopisch; allerdings beschreibt auch Liebreich sein Protagon, mit 10% Lecithin mehr als das unserige, als ebenfalls nicht hygroskopisch.

Auch hierzu kann ich nur bemerken, dass die ersten noch nicht ganz reinen Protagon-Präparate beim Beginne dieser Arbeit sich mir als so hygroskopisch erwiesen, dass ich mich zum Zwecke der sicheren Wägungen nach besonderen Apparaten umsah, um diesem Uebelstande zu begegnen. Dieselben wurden später gar nicht mehr in Gebrauch gezogen, da sie sich für die reinen Präparate als gänzlich überflüssig erwiesen.

Die Beimengungen, die diese Eigenschaft der Präparate hervorriefen, waren aber sehr gering, wie auch hier die P-Bestimmungen zeigten, und leicht mit Aether zu beseitigen. Also hier dieselben Verhältnisse wie beim Schmelzpunkte.

Diese, wie mir scheint, gewichtigen zwei Gründe: 1. der constante Schmelzpunkt des Protagon, der höher liegt als derjenige des daraus isolirbaren Cerebrins, 2. das Fehlen des Bestrebens, Feuchtigkeit anzuziehen, neben der Thatsache, dass dem Protagon durch kalten Aether oder mit 40—45° warmem Alkohol von 85% nicht mehr P entzogen werden kann, als die von mir und Blankenhorn & Gamgee ermittelten Zahlen, wie schon Diakonow fand, erfordern, sprechen mit grösster Wahrscheinlichkeit dafür, dass die Bestandtheile des Lecithin in ihm mit dem Cerebrin in chemischer Verbindung sein müssen. Lecithin in Substanz ist noch nicht aus unserem Protagonen dargestellt.

Das Lecithin, was Diakonow aus dem Protagon erhalten, war aber demselben beigemengt als freies Lecithin

oder in lockerster Verbindung mit dem eigentlichen Protagon. Den etwa in diesem noch vorhandenen Rest erhält man nur durch Zerstörung der Verbindung; aber dann auch nur Zersetzungsprodukte, die man gewohnt ist, als beweisend für die Gegenwart des Lecithin anzusehen.

Das reine Protagon ist eine unverändert aus nicht zu starkem Alkohol bei 45° umkrystallisirbare Verbindung, die gegen chemische Agentien eine verhältnissmässig grosse Widerstandsfähigkeit besizt; man muss lange mit Barytwasser kochen, um das phosphorfreie Cerebrin daraus zu gewinnen.

So wie bisher dasselbe dargestellt worden, war es aber nicht durch einmaliges Umkrystallisiren zu reinigen. Man muss wiederholt, wie Blankenhorn & Gamgee verfuhren, aus warmem Alkohol umkrystallisiren und mit Aether extrahiren, um diesen Zweck zu erreichen Es hält hartnäckig fremde P-haltige Stoffe zurück (das Cholesterin ist leicht zu entfernen), die sich dadurch bemerklich machen, dass sie erstens den Schmelzpunkt des Protagon erniedrigen, und zweitens, dass sie einen höheren P-Gehalt, als dem Protagon zukommt, in die letzte Mutterlauge bringen.

Diese verunreinigenden Verbindungen sind meiner Benennung nach keine Gehirnstoffe, sondern Zersetzungsprodukte von diesen. Sie sind zum Theil solche, die durch alkalische Reaction, unter anderen Umständen solche, die durch saure Reaction den Grund zur Zersetzung des Protagon legen. Durch ihre Abspaltung aus ursprünglich vorhandenem Protagon entstehen andererseits wieder Verbindungen mit geringerem P-Gehalt oder auch P-freie.

Meistens sind diese in das Protagon schon bei der ersten Bearbeitung der Gehirne gebracht worden und dann ausserordentlich schwer zu entfernen.

Von ihnen rühren zum Theil die Zweifel an der Existenzfähigkeit des Protagon her; zum Theil stammen aus dieser Quelle die mancherlei verschiedenen, auch in neuerer Zeit wieder beschriebenen Gehirnstoffe.

Im Grossen und Ganzen liegen die Verhältnisse viel einfacher, als aus den Arbeiten von Thudichum und Parcus

hervorzugehen scheint. Die Grundlage zur Erkenntniss der Verhältnisse findet sich bereits in den klassischen Arbeiten von Vauquelin, Couerbe und Frémy. Zum Theil durch v. Bibra's, wesentlich aber durch Müller's Untersuchungen wurden Zweifel an den gewonnenen Resultaten rege, trotzdem diese nur eines ruhigen Fortschreitens auf dem betretenen Wege bedurft hätten, um zum Ziele zu führen. Man vergass, nach den ursprünglichen Gehirnstoffen zu suchen. Erst Liebreich kehrte wieder auf den richtigen Weg zurück, während die Arbeiten von Gobley, Hoppe-Seyler, Diakonow, Parcke und Strecker Licht verbreiteten über das Vorkommen und das Wesen der Lecithine.

Ich habe bis jetzt beim Arbeiten nach meiner Methode, wenn ich auch die Versuche dazu in der mannigfachsten Weise modificirte, niemals freies Cerebrin im Gehirne finden können. Wurde mit allen Cautelen gearbeitet, so wurde reines Protagon isolirt; wurde weniger vorsichtig verfahren, so erhielt ich immer noch P-haltige Zersetzungsprodukte desselben, niemals ein P-freies Cerebrin. Dieses wurde nur durch Kochen mit Barytwasser gewonnen.

Weitere Aufklärung erhoffe ich zu bringen, wenn es mir möglich geworden, nach Darstellung genügender Mengen reinen Protagon's nach meiner Methode, die Zersetzungsprodukte desselben quantitativ zu studiren. Besonders werde ich die durch Alkalien hervorgerufenen Spaltungen einer erneuten Untersuchung unterziehen, um wo möglich die Ursache der so verschiedenen analytischen Resultate in Bezug auf das Cerebrin erklären zu können.

III.

Quantitative Untersuchung.

Ich versuchte auf Grund der bei dieser Trennungsmethode der Gehirnbestandtheile gemachten Erfahrungen eine quantitative Bestimmung derselben, um womöglich aus den gefundenen Zahlen zu ersehen, ob und wo die fernere Untersuchung vorzugehen habe. Zugleich ging nebenher noth-

wendigerweise eine Bestimmung des Phosphors in den einzelnen auf diese Weise gewonnenen Abtheilungen, um einen Ueberblick über dessen Vertheilung in denselben zu gewinnen.

Wenn auch die ermittelten Zahlen in vieler Beziehung, wie ich mir nicht verhehle, zu bemängeln und durchaus nicht einwurfsfrei sind, so glaube ich es doch erreicht zu haben, dass sie sich möglichst der Wahrheit nähern. Es ist dies eben der erste Versuch zur Anwendung der neuen Erforschungsmethode des Gesammtgehirns; der aber darin seine Berechtigung findet, dass er auf sehr viele einzelne Vorversuche gegründet ist. Die bei denselben gewonnenen Resultate wurden erst zu dieser quantitativen Untersuchung ausgenutzt, nachdem sie sich bei sehr häufiger Wiederholung als stichhaltig erwiesen hatten. Es sind also die gefundenen Zahlen gewissermassen der Ausdruck für erfahrungsmässig sich wiederholende Verhältnisse. Sie sind nicht nur giltig für diesen einzelnen Fall, sondern geben ein typisches Bild für das Gehirn im Allgemeinen ab.

Es wurden dann neben den beiden eigentlichen quantitativen Analysen noch zwei qualitative Untersuchungen gleichmässig fortgeführt, um da, wo Etwas sich als unsicher für die Bearbeitung herausstellen sollte, ohne Schaden für den Gang der Ersteren, Versuche anstellen zu können. Auf diese Weise gelang es, die beiden Untersuchungen ohne Störung zu Ende zu bringen.

Um Wiederholungen zu vermeiden, will ich bemerken:

I. Albumin, Extrakte u. s. w. wurden getrocknet durch tagelanges Erhitzen auf 100° im Trockenschrank mit wassergefüllten Doppelwänden bis zum constanten Gewichte.

II. Die Aschenbestimmungen wurden durch direktes langsames Verbrennen im Platintiegel ausgeführt.

III. Die Phosphorbestimmungen wurden aus den Aschen, wo solche zu bestimmen, sonst durch Verbrennen der Substanz mit Soda und Salpeter und dann nach der Molybdänsäure-Magnesia-Methode gemacht.

IV. Asche und Phosphor für die Filter wurde nicht abgezogen, da das von Warmbrunn und Quilitz bezogene Papier N 00 sich als nahezu aschen- und ganz P-frei erwies.

V. Die organischen Bestandtheile von Albumin, Extrakt u s. w. sind aschenfrei angegeben. Die Asche ist besonders berechnet.

Bei diesen Analysen wurde dahin gestrebt, zugleich auch eine annähernde Kenntniss der Zusammensetzung der grauen und weissen Substanz zu erhalten. Da deren mechanische Trennung nicht möglich ist, so wurden von einem grossen Pferdegehirne, das unmittelbar nach dem Tode des Thieres in die Aetheratmosphäre gebracht und darin möglichst von Blut befreit war, mit dem Messer Stücke abgeschnitten und je nach ihrem grösseren Gehalt an grauer oder weisser Substanz gesondert gewogen. Es wurde, um möglichst rasch zu arbeiten, nicht ängstlich gesucht beide Substanzen, soweit sonst thunlich, zu trennen, sondern nur danach gestrebt, überwiegend in jeder Portion eine von Beiden zu haben.

VI. Ich werde die beiden Portionen in dem Folgenden je nach dem Vorwiegen der einen oder der anderen Substanz einfach als weisse und graue Substanz bezeichnen und die erstere wie in der Tabelle links, die andere rechts in den Parallelzahlen anführen.

VII. Es wurden zur Untersuchung genommen:

Weisse Substanz = 107,60 gr.
Graue Substanz = 116,03 gr.

Doch sind nur die auf 100 gr. berechneten Zahlen für beide Reihen in der Tabelle gegeben.

Diffusion.

In je einem tarirten Trichter, der durch einen mit Glaswolle gefüllten Platinconus verschlossen war, wurden die Portionen möglichst rasch gewogen. Damit die Fäden der Glaswolle nicht mit den Gehirnscheiben in Berührung kämen, war ein Scheibchen glattesten, aschefreien Filtrirpapieres auf dieselbe gelegt. Dasselbe liess sich später leicht entfernen;

während ein grösseres Filter hinderlich gewesen wäre. Die Trichter wurden dann auf Bechergläser gesetzt, so dass das Ende des Trichterrohres noch etwa 4 cm. vom Boden derselben entfernt war, und das Ganze darauf in grössere mit aufgeschliffener Glasplatte verschliessbare Gläser in alkoholfreien Aether versenkt. Sofort begann die Diffusion und wurde so lange fortgesetzt unter zeitweiser Erneuerung des Aethers, bis derselbe beim Abdestilliren kaum noch einen Rückstand liess. Dies war bei der weissen Substanz am 29. Tage, bei der grauen Substanz am 35. Tage erst erreicht. Der Austritt von Wasser hatte bei beiden schon viel früher aufgehört. Dass der Aether gar keinen Rückstand hinterliess war nicht zu erreichen, weil, wie ich schon zeigte, die später durch Alkohol zu gewinnende Substanz etwas, aber schwer, in kaltem Aether löslich ist.

Wasserextrakt.

Das Wasserextrakt sammelte sich in dem Becherglase an und wurde in diesem wiederholt mit Aether gewaschen, um alles darin Lösliche abzutrennen. Aus demselben schied sich coagulirtes Albumin aus; dasselbe wurde auf einem gewogenen Filter gesammelt und mit einer gemessenen Quantität (200 cbcm.) Wasser ausgewaschen, feucht gewogen, dann getrocknet und wieder gewogen. Vergleichsversuche hatten gezeigt, dass 200 cbcm. Wasser zum Auswaschen völlig genügten.

Die Zunahme des Waschwassers plus dem Trockenverlust des Filters plus der Differenz zwischen dem feucht und trocken gewogenen Becherglase ergaben die Menge des Diffusionswassers.

Das Waschwasser wurde eingedampft, wobei das gelöste Albumin coagulirte. Dies wurde ebenfalls quantitativ bestimmt und der nun albuminfreie Extrakt eingedampft, getrocknet und gewogen.

Die beiden Albuminabscheidungen jeder Portion wurden verascht und in der Gesammtasche, weil beide einzelnen Mengen zu gering erschienen, und in der Asche des Extraktes der P bestimmt.

Es wurden fast gleiche Zahlen für graue und weisse Substanz, berechnet in Procenten auf das Feste des Wasserextraktes gefunden:

14,48%	Albumin direkt coagulirt . .	15,39%
12,87 «	durch Kochen coagulirt . .	13,12 «
0,46 «	Asche für 1	0,49 «
0,21 «	Asche für 2	0,21 «
55,19 «	Extrakt organisch	55,25 «
16,77 «	Extrakt Asche	15,53 «

Nur wurde etwas mehr freiwillig coagulirtes Albumin in II als in I gefunden und weniger Asche in dem albuminfreien Extrakte von II als von I. Diese Differenz auf eine Verschiedenheit des Wasserextraktes der grauen und weissen Substanz zurückzuführen halte ich für sehr gewagt. Umsomehr da der Gehalt des Diffusionswassers an fester Substanz fast genau denselben Procentsatz zeigt:

3,528% 3,639%

Die Zahlen für den P-Gehalt der Asche des Albumins nähern sich denen für neutrales phosphorsaures Calium = 20%, nämlich:

17.948% 16,666%

Doch brauste die Albuminasche etwas mit Säuren auf und in der Lösung derselben war Magnesium nachweisbar,

Der P-Gehalt der Extrakt-Asche wurde, wie zu erwarten. da neben Cl und SH_2O_4 noch CO_2 nachweisbar, viel niedriger aber annähernd übereinstimmend gefunden:

10,087% 9,443%

Das sind Zahlen, die wiederum für die Gleichartigkeit der beiden Extrakte sprechen.

Dagegen war die Gesammtquantität der diffundirten Flüssigkeit geringer bei der weissen als der grauen Substanz:

44,410% 58,528%

Dieser Befund entspricht allerdings der schon länger bekannten Thatsache, dass die graue Substanz mehr Wasser enthält als die weisse, doch verhielt sich die nicht zur Diffusion zu bringende Menge anders. Diese letztere ergiebt sich aus der Differenz der gesammten festen Bestandtheile gegenüber der zur Analyse genommenen Quantität. Dieselbe

verhielt sich gerade umgekehrt, d. h. es war mehr Wasser von der weissen Substanz zurückgehalten worden als von der grauen. Beide enthielten noch nach beendeter Diffusion:

25,125% 18,469%

Diese Differenz von:

14,644 %

(denn $\frac{58.528 \times 25,125}{44,410} = 33,113$ und $33,113 - 18,469 = 14,644$)

gegen das zu erwartende Verhältniss kann nicht durch Versuchsfehler verursacht sein. Sie muss in der Natur der beiden Substanzen ihre Begründung haben, besonders da die graue Substanz länger im Aether sich befand als die weisse.

Alkohol, kalt.

Nach Beendigung der Diffusion wurde der feste Rückstand zunächst mehrmals mit 85 procent., dann mit 95 procent. und endlich mit ganz absolutem Alkohol in einem mit aufgeschliffener Glasplatte verschliessbarem und mit derselben zusammen tarirten Becherglase übergossen, um denselben zu entwässern. Diese Operation wurde unter 0° vollendet, da bei dieser Temperatur nicht zu befürchten war, dass sich etwa von dem später bei 45° durch Alkohol zu entfernenden auflöste. Der Alkohol löste aber noch Substanzen auf, besonders der verdünntere. Derselbe wurde immer durch ein kleines getrocknetes und tarirtes Filter abgegossen und bei möglichst niederer Temperatur (45°) verdunstet. Der Rückstand schied sich in einen in Aether löslichen und in Wasser unlöslichen, einen in Aether unlöslichen, aber in Wasser löslichen und einen in beiden Lösungsmitteln unlöslichen Theil. Der im Aether lösliche wurde zum Aetherextrakt gegeben, die beiden anderen quantitativ bestimmt.

Der in Wasser unlösliche erwies sich als Eiweiss mit Asche:

4,99% 4,23%

in welcher in beiden zusammen:

12,979% P.

Also enthielt er mehr Asche, als beide Albumine des Diffusionswassers mit:

3,10%	und	3,11%
1,64 «		1,58 «

aber weniger P, denn diese enthielten:

17,948% und 16,666%

Der im Wasser lösliche Theil hatte Geruch und Geschmack des Fleischextraktes und enthielt Asche:

14,27% 15,10%

in welcher in beiden zusammen:

6,056% P.

Also enthielt es weniger Asche, als das Extrakt des Diffusionswassers mit:

23,31% und 21,25%

und weniger P, denn dieses enthielt:

10,087% und 9.448%

Beide Substanzen, als in dem nicht diffundirten Wasser enthalten angenommen und auf dieses berechnet, geben wieder fast gleiche Zahlen:

1,79%	das Unlösliche	2,27%
3,76 «	das Lösliche .	4,09 «

Da also auch diese Wasserextrakte nahezu gleich zusammengesetzt, so scheint in der That die obige Differenz in Bezug auf das nicht diffundirte Wasser auf dem verschiedenen Vermögen der beiden Substanzen, die wässerige Flüssigkeit physikalisch zurückzuhalten oder diffundiren zu lassen, zu beruhen.

Dass übrigens die beiden eben besprochenen Extrakte von dem nur in Aether oder Alkohol Löslichen der Gehirnsubstanz wirklich ganz unabhängig waren und nur dem wässerigen Extrakte angehörten, geht aus Folgendem hervor: Nach dem Ausfällen der Phosphorsäure durch überschüssiges Barytwasser aus dem durch möglichst vorsichtiges Eindampfen von Alkohol befreiten und dann mit Aether erschöpften Extrakte gab das Filtrat vom phosphorsauren Baryum keine Reaktion auf Phosphorsäure mehr, wenn dasselbe auch längere Zeit mit Salzsäure gekocht wurde.

Ueberall, wo man mit Zersetzungsprodukten der alkoholischen oder ätherischen Gehirnextrakte zu thun hat, wird

man Phosphorsäure aus unzersetzter Glycerinphosphorsäure stammend auf diesem Wege nachweisen können.

Wenden wir uns zunächst dem bei 45° gewonnenen Alkoholextrakte zu. Dasselbe wurde folgendermassen quantitativ bestimmt.

Alkohol bei 45°.

Der Rückstand von der Aetherdiffusion, der dann mit kaltem Alkohol behandelt worden, nebst dem kleinen Filter, durch das der kalte Alkohol abgegossen, wurden in dem vorhin erwähnten Becherglase zunächst über SH_2O_4 von dem anhaftenden absoluten Alkohol befreit, dann im Vacuum bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen. Darauf wurde das Filter wieder in einen Trichter gebracht, der Inhalt des Becherglases in diesem mit 85procent. Alkohol bei 45° wiederholt extrahirt und der Alkohol jedesmal durch das tarirte Filter bei derselben Temperatur abfiltrirt. Nachdem eine, von einem ganz gleichmässig geführten Parallelversuche abfiltrirte Alkoholprobe beim Verdunsten keinen Rückstand mehr liess, wurde noch 3mal mit Alkohol bei 45° extrahirt, um auch das Filter damit sicher zu erschöpfen; dann wurde es zu dem Inhalte des Becherglases wieder zurückgegeben, dieses wie vorhin getrocknet und gewogen. Die Gewichtsdifferenz musste den Gehalt an Protagon angeben. Die so gewonnenen Zahlen entsprechen nach der Tabelle:

2,511% 1,080%

der wasserhaltigen Gehirnmasse; oder

8,242% 4,695%

der trockenen mit P in Procenten der trockenen:

0,0847% 0,0482%

Danach ist es wahrscheinlich, dass dieser Auszug ausschliesslich der weissen Substanz angehört.

Die durch Abkühlen erhaltenen blendendweissen Krystalle der bei 45° gelösten Substanz werden noch einmal aus weniger Alkohol bei 45° umkrystallisirt. Die erste und zweite Krystallisation zeigten die gleiche Form der Krystalle, wie sie oben schon beschrieben, ohne eine Spur kugliger oder knolliger Massen.

Bei dem Erhitzen im Capillarrohr zeigten beide dieselben Erscheinungen, wie sie schon oben angegeben:

150—160° schwache Bräunung;
gegen 200° Schmelzpunkt;
220° Sieden und Gasentwickelung unter Bräunung.

Von der zweiten Krystallisation gaben:

1,4810 gr. Substanz	=	0,0548 nr. $P_2Mg_2O_7$
	=	1,0263% P
0,3002 gr. Substanz	=	0,7326 gr. CO_2
	=	66,48% C
	=	0,3048 H_2O
	=	11,12% H.

Leider ging der Rest der Verbindung durch einen unglücklichen Zufall verloren, so dass eine N-Bestimmung nicht mehr möglich war.

Der von der ersten Krystallisation abfiltrirte Alkohol wurde bei 40° auf ein ganz kleines Volumen gebracht und mit Kochsalz und Schnee längere Zeit auf einer sehr niedrigen Temperatur erhalten. Er lieferte noch weitere Krystalle. Die von diesen gewonnene Mutterlauge und der Waschalkohol auf dieselbe Weise behandelt gab noch Spuren von Nadeln. Die ersteren Krystalle zeigten den obigen Schmelzpunkt; die Menge der Letzteren genügte nicht mehr zu einer Bestimmung desselben.

Der letzte Alkohol hinterliess beim Verdampfen nur unwägbare Mengen festen Rückstandes.

Jedenfalls zeigt aber dieser Versuch sicher, dass im Alkoholextrakt bei 45° nur eine Verbindung vorhanden und dass bei dieser quantitativen Untersuchung dieselbe Substanz erhalten worden ist, die beim Arbeiten im Grossen als einheitliche Verbindung isolirt worden.

Alkoholauskochung.

Nach der Extraktion mit Alkohol bei 45° wurde mit solchem ausgekocht. Dieser kochend erhaltene alkoholische Auszug wurde auf dem Wasserbade abgedampft und ergab nach dem Trocknen einen Rückstand in Procenten vom Festen:

3,262% 2,986%

bestehend aus in Aether Löslichem:

62,70% 56,89%

in Aether Unlöslichem, aber in Alkohol Löslichem:

37 30% 43,11%

Er war aschenfrei und reagirte neutral. In beiden Portionen wurde jedesmal zusammen der Phosphor bestimmt.

Es enthielt:

die erstere 2,2865% P
die zweite 2,0791 « P.

Dieselben sind in der Gesammtübersicht mit ihren Löslichkeits-Eigenschaften in Rechnung gezogen, ohne dass ich mir einen Schluss auf ihre Natur oder ihre Abstammungsart erlaube. Am wahrscheinlichsten ist es wohl, dass man sie als Zersetzungsprodukte irgend welcher anderen Substanz anzusehen hat.

Wasserauskochung.

Ebenso musste es mit der nun noch durch Auskochen mit Wasser erhaltenen Materie geschehen.

Dieselbe war aschenfrei und reagirte sauer. Aus beidem ergiebt sich wohl mit Sicherheit, dass sie nicht dem Wasserextrakte angehörte.

Sie betrug des Festen:

1,799% 2,855%
mit 6,1068% P

Aetherextrakt.

Jetzt bleibt von dem Löslichen des Gehirnes noch das ganze Aetherextrakt zu besprechen. Dasselbe beträgt vom Festen:

52,469% 42,348%

mit Phosphor in Procenten des Festen:

0,8574% 0,7534%

Vergleichen wir diesen Auszug mit dem Alkoholauszuge, so finden wir, dass unendlich viel mehr in Aether als in Alkohol löslich ist und der Phosphor des Gehirnes vorwiegend im Aetherextrakte sich anhäuft. Dann aber geht aus den Zahlen hervor, dass, während der Alkoholextrakt vorwiegend oder einzig und allein der weissen Substanz angehört, der Aetherextrakt beiden gemeinsam ist. Denn wenn auch der

Procentsatz durchaus nicht ein gleicher für beide Gehirnportionen ist, so entfernt der Gehalt in beiden an Aetherextrakt sich doch so weit von dem Verhältniss der Alkoholextrakte:

$$\frac{4.695 \times 52,469}{8,242} = 29,889 \text{ anstatt } 42,347, \text{ die gefunden,}$$

dass wohl eher an eine locale Verschiedenheit der zur Analyse gerade genommenen Gehirnpartien als an eine vorwiegende oder alleinige Anhäufung des in Aether Löslichen in der weissen Substanz zu denken wäre.

Es wäre aber denkbar, dass ein Theil des in Aether Löslichen sich verhielte wie das Protagon; und da zeigt sich nun, dass ein ganz ähnliches Verhältniss besteht in der Vertheilung des freien Cholesterin und der in Aether schwer löslichen Flocken, die schon früher erwähnt wurden. Dieses beträgt in Procenten des Festen:

5,97% 2,74%

Die Flocken dagegen:

4,99% 2,22%

Das Protagon:

8,24% 4,69%

Ziehen wir diese Zahlen für freies Cholesterin und Flocken aber ab von den Zahlen für den Gesammtätherextrakt, so erhalten wir in Procenten des Festen:

41,51% 37,39%

Das zeigt aber einen fast gleichen Gehalt in grauer und weisser Substanz davon an.

Wurde der Aether von dem Extrakte verjagt, dieser getrocknet und dann wieder in möglichst wenig alkoholfreiem Aether aufgenommen, so blieb der schon erwähnte, flockige weisse Körper ungelöst. Er wurde gesammelt und gewogen (1), wie später 2—7 folgt.

Da nun aus der vorhergegangenen Untersuchung ersichtlich, dass ein grosser Theil des Aetherextraktes aus freiem Cholesterin bestehe, neben gebundenem, so wurde zunächst gesucht, Ersteres möglichst zu gewinnen.

Man erreicht diesen Zweck allerdings auf einem etwas sehr langwierigen Wege recht vollständig, wenn man nach folgender Methode verfährt:

Das von Aether ganz befreite Extrakt wird bei 40—45° in möglichst wenig Alkohol von 95 % unter Umrühren aufgenommen, dann einige Zeit bei dieser Temperatur stehen gelassen und endlich langsam auf 0° abgekühlt. Hierbei fällt aus der anfänglich niemals klaren Lösung schon beim Stehen bei 45° ein brauner schmieriger Bodensatz nieder, während sich in der darüber stehenden gelblichen Flüssigkeit beim Erkalten weisse Cholesterin-Krystalle abscheiden. Diese sammelt man auf einem Filter und wäscht so lange mit kaltem Alkohol nach, bis dieser nicht mehr gefärbt abläuft.

Das ausgeschiedene Bodensatz wird bei 45° wiederholt mit Alkohol von 95 % behandelt, bis dieser durchaus nicht mehr gefärbt wird und kein Cholesterin mehr abscheidet, also überhaupt Nichts mehr aufnimmt. Ein Theil bleibt als in Alkohol unlöslich zurück. Das Cholesterin sammelt man wieder auf einem Filterchen und wäscht gut mit Alkohol nach.

Dampft man nun die erste und diese zweiten alkoholischen Lösungen wieder bei 45° ganz ein und verfährt mit dem Rückstande gerade so wie mit dem Ersten, so kann man denselben wiederum zerlegen in:

1. Cholesterin-Krystalle, 2. einen in Alkohol ganz unlöslichen und 3. einen darin leicht löslichen Theil.

Werden diese Operationen etwa ½ Dutzend Mal wiederholt, so nehmen 1 und 2 immer mehr ab, bis endlich deren Ausscheidung ganz aufhört.

Wenn dieses erreicht war, brachte ich die alkoholischen Auszüge wieder auf ein kleines Volumen bei 45° (doch nur so weit, dass bei dieser Temperatur keine Ausscheidung irgend welcher Art erfolgte) und kühlte dann auf 0° ab. Es krystallisirte wieder etwas Cholesterin heraus.

Nachdem dieses wie vorhin gesammelt, verjagte ich den Alkohol wieder ganz bei 45° und löste den Rückstand in solchem von 85 %. Diese Lösung gab, wie die vorige

behandelt, noch einmal sehr wenig Cholesterin-Krystalle. Weitere waren nicht zu gewinnen.

Die letzten Cholesterin-Krystalle wurden auf dem Filter mit Alkohol von 10° ausgewaschen, bis sie ganz weiss erschienen; der Waschalkohol auf ein ganz kleines Volumen gebracht und auf 0° erkältet. Es schieden sich noch Spuren von Cholesterin ab, die auf einem besonderen kleinen Filter gesammelt wurden. Der Waschalkohol von diesem gab keine Krystalle bei der Wiederholung der vorigen Operation, er wurde zu der ersten alkoholischen Lösung hinzugegeben.

Es war also erhalten worden:

a) Cholesterinkrystalle auf verschiedenen Filtern;

b) Eine in Alkohol unlösliche Substanz in verschiedenen Bechergläsern;

c) Eine alkoholische Lösung.

a) Das Cholesterin wurde mit mölichst wenig Aether von den verschiedenen Filtern zum Trocknen und Wägen in ein tarirtes Bechergläschens gebracht (5) und als wasserfreies bestimmt.

Dabei zeigte sich, dass wiederum ein Theil, wie zu Anfang der Bearbeitung des Aetherextraktes, in Aether unlöslich blieb. Diesen löste ich in Alkohol, verdunste denselben in einem tarirten Tiegel und wog den Rückstand (2).

Um mich zu überzeugen, in wie weit das gefundene Cholesterin rein sei, besonders da es sich beim Trocknen bei 100° etwas bräunte, wurde eine gewogene Menge desselben durch Kochen mit weingeistigem KHO zu reinigen versucht. Nach dem Abdunsten des Alkohols erhielt ich durch Aether wieder von:

5,374 gr. — 5,350 gr., also 99,55%.

Das gereinigte Cholesterin bräunte sich bei 100° nicht mehr und enthielt keinen P.

Doch ziehe ich es vor, da die Verunreinigungen sich nur so gering erwiesen, die direkt gefundenen Zahlen in Rechnung zu setzen, besonders weil es nicht möglich war,

zu ermitteln, unter welchen Gruppen die fragliche Substanz in Procenten des Aetherextraktes von:

0,07% 0,03%

etwa aufzuführen wäre.

b) Das in Alkohol Unlösliche wurde mit Aether behandelt. Ein Theil löste sich (3), ein Theil nicht (4). Beide wurden getrennt bestimmt.

c) Der Rückstand der alkoholischen Lösung wurde getrocknet und gewogen. Einen aliquoten Theil desselben verseifte ich mit alkoholischem KHO, verjagte den Weingeist, nahm in viel Wasser auf und erschöpfte mit Aether völlig. So wurde das gebundene Cholesterin gewonnen (b). Der Rest nach Abzug dieses ist mit (7) bezeichnet.

Ein anderer aliquoter Theil wurde benutzt zu einer Bestimmung des Phosphors.

Ich erhielt auf diese Weise in Procenten des Aetherextraktes:

0,36	1	0,29	I	Flocken.
9,16	2	5,07	II	
4,61	3	6,81	Aether löst.	Unlöslich in Alkohol.
0,05	4	0,05	« löst nicht	
11,37	5	6,47	freies	Cholesterin.
16,86	6	17,97	gebundenes	
57,59	7	63,34	Rest mit Lecithin.	

Aus diesen Zahlen geht hervor, dass das gebundene Cholesterin und der in Alkohol leicht lösliche Theil die grösste Masse des Aetherextraktes ausmachen und zwar dass sie betragen von der ganzen festen Substanz des Gehirns:

39,079% 34,435%

Wovon gebundenes Cholesterin:

8,819% 7,610%

Gegenüber freiem Cholesterin:

5.972% 2,735%

Danach ist also viel mehr gebundenes als freies Cholesterin im Gehirne und während ersteres in nahezu gleicher Menge in weisser und grauer Substanz enthalten, findet sich das freie nur in geringer Quantität in letzterer, wenn es nicht ganz darin fehlt und gerade wie beim Protagon die

gefundene Menge der in Portion II enthaltenen weissen Substanz zuzuschreiben ist.

Mit diesem Befunde würde auch übereinstimmen, dass die aus dem Aetherextrakt zweimal ausgeschiedenen, nur wenig in Aether löslichen Flocken sich zum überwiegenden Theil in der weissen Substanz finden. Diese Flocken sind sicher, wie anderweite Versuche zeigten, nichts anderes als Protagon, das wegen seiner Löslichkeit in viel Aether in den ersten Extrakt mit aufgenommen war. Wenn auch die P-Bestimmungen höhere Zahlen als für Protagon passend ergaben, so muss man in Betracht ziehen, dass es nicht möglich war durch Umkrysallisiren die geringe Menge zu reinigen. Durch Kochen mit verdünnter SH_2O_4 wurde eine CuO leicht reducirende Lösung erhalten und Versuche im Grossen lieferten aus dieser Substanz nach 2maligem Umkrystallisiren aus Alkohol bei 45° Protagon-Krystallisationen vom richtigen Schmelzpunkt und Phosphorgehalt.

So wie ihre Bestimmung unter den gegebenen Verhältnissen nur möglich war, d. h. durch Eindampfen der alkoholischen Lösung und Trocknen und Wägen des Rückstandes wurden erhalten vom Festen:

0,187%	0,122%
4,808 «	2,103 «

Mit P:

1,8085%
1,2797 «

Von dem in Alkohol Unlöslichen war unlöslich auch wieder in Aether:

5,83%	7,73%

oder vom Festen der Gehirnmasse;

0,0259%	0,0204%

das neben einer Spur Organischem fast ganz aus Unorganischem merkwürdiger Weise bestand mit:

17,8571% P.

Dies deutet also wieder auf Calciumphosphat hin.

Das in Aether Lösliche betrug:

2,421%	2,845%

des Festen. Die fast gleiche Menge desselben spricht dafür,

dass es ein durch gleichmässiges Arbeiten entstandenes gleichmässiges Zersetzungsprodukt des Aetherextraktes sei,

Was nun den in Alkohol leicht löslichen Theil betrifft, so lieferte er bei der Zersetzung Cholesterin:

22,64% 22,10%

Er enthielt dann im Reste P:

2,4203% 2,4406%

Diese Zahlen zeigen die Gleichartigkeit des Gemenges an, denn es ist sicher keine einheitliche Verbindung.

Nehmen wir an, der Phosphor wäre als Lecithin vorhanden und das Cholesterin, wie ich vermuthete, als Oelsäure-Aether, also einer Verbindung mit hohem Molekulargewicht, so hätten wir:

Aether. .	4,6163	2,9976
Lecithin .	5,5692	3,7746
Summa .	10,1855	6,7722
Gegen:	11,9052	7,9210
Differenz .	1,7197	1,1488

Es wären also dann nicht gedeckt:

14,43% 14,50%

des Ganzen.

Daraus folgt, dass das Cholesterin, was mir wahrscheinlich erscheint, in einer Verbindung mit höherem Molekulargewicht als ich angenommen, darin vorkommt und dass entweder eine Verbindung mit niederem P-Gehalt als Lecithin oder neue P-freie Verbindungen darin zu suchen sind.

Es liegt darin die Aufforderung, gerade diesen Theil der Gehirnmasse, der nach meiner Methode so leicht zu gewinnen ist, besonders in's Auge zu fassen. Bis jetzt wissen wir eigentlich so gut wie gar Nichts über denselben.

Ob freies Lecithin z. B. in demselben, wie man annimmt, in nennenswerthem Masse vorhanden, ist noch gar nicht bewiesen. Dargestellt hat es (ausser den Angaben von Diaconow fehlt jeder Versuch dazu) noch Niemand mit absoluter Sicherheit daraus. Wenn man den Phosphor des Aetherextraktes zu Lecithin berechnete, so fehlte jegliche berechtigte Grundlage dazu; ebenso wie es durchaus nicht

zulässig ist, alles Cholesterin als frei im Gehirne vorkommend anzunehmen. Es wurde bisher auf dem Wege der Gewinnung der grösste Theil erst in Freiheit gesetzt und mit dem freien zusammen in Rechnung gezogen.

Unlöslicher Rest.

Der ganze mit Aether, Alkohol und Wasser erschöpfte Rückstand betrug nach dem Trocknen:

7,7980 gr.	8,5620 gr.

von dem in Arbeit genommenen. Davon liess ein aliquoter Theil und zwar:

1,2657 gr.	1,8665 gr.

nach dem Behandeln mit Pepsin-Glycerin und 0,1 % Salzsäure bei 30° bis zur Erschöpfung:

0,3825 gr.	0,3140 gr.

Es waren mithin unlösliches Eiweiss und Bindegewebe entfernt worden:

0,8832 gr.	1,5525 gr.

Das ist aber berechnet auf das ganze Unlösliche:

5,4414 gr.	7,1216 gr.

Die Wirkung der Pepsin-Salzsäure wurde als beendet angesehen, nachdem bei einem Parallelversuche nach wiederholtem Auswaschen, Trocknen und Wägen der mit Pepsin wieder behandelte Rückstand keine Gewichtsabnahme mehr zeigte. Zur Sicherheit wurde die eigentliche quantitative Extraktion dann noch 12 Stunden fortgesetzt.

Da zugleich aber durch die Salzsäure alle Aschenbestandtheile ausgezogen worden, so musste um auf rein organische Substanz zu kommen, noch Folgendes abgezogen werden:

3,7340 gr.	3,0535 gr.

Substanz liessen nach dem Verbrennen Asche;

0,0285 gr.	0,0244 gr.

Dies auf die ganze Menge berechnet und von dem ganzen Verlust abgezogen, giebt reines Organisches:

5,3819 gr.	7,0532 gr.
oder 69,02%	82,38%

des ganzen Restes, oder des ganzen Festen des Gehirns

16,418%	26,427%

Danach ist die Menge der verdaulichen festen Materie (Eiweiss, Bindegewebe) in der grauen Substanz weit grösser, sowohl der ganzen festen Masse, wie dem durch Alkohol, Aether, Wasser nicht Löslichen gegenüber, als in der weissen Substanz.

Die Menge des nach der Pepsinverdauung bleibenden Rückstandes war bestimmt worden, nachdem er auf einem tarirten Filter gesammelt und getrocknet worden war. Ausgewaschen wurde so lange, bis das Waschwasser in grösserer Quantität verdunstet, keinen Rückstand mehr liess.

Dieser nun gebliebene Rückstand wurde mit etwa 2 procent. Natronlauge anf dem Filter unter zeitweisem Verschlusse des Trichterrohres bei Erneuerung der Natronlauge behandelt, um das Nuclein zu extrahiren. Er quillt ziemlich stark auf und ist schwer bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion auszuwaschen. Nachdem dies erreicht, wurde wieder auf demselben Filter getrocknet und gewogen.

Es waren geblieben;

0,3307 gr. 0,2637 gr.

Mithin sind durch die Natronlauge entfernt worden:

0,0518 gr. 0,0503 gr.

Das macht auf die Gesammtmenge des Unlöslichen berechnet:

0,3191 gr. 0,2307 gr.

oder in Procenten derselben:

4,09% 2,69%

und des Gesammt-Festen des Gehirns:

0,97260% 0,86420%

Daraus scheint hervorzugehen, dass die Theile, welche das Nuclein enthalten, gleichmässig in den beiden Substanzen vertheilt, dass sie aber unabhängig von der Natur des übrigen Unlöslichen sind. Einerseits ist der Procentgehalt des Festen der beiden Substanzen daran nahezu gleich, andererseits ist er in dem Unlöslichen der grauen Substanz bedeutend geringer als in dem der weissen, während doch die graue Substanz an Unlöslichem bedeutend mehr enthält,

als die weisse. Der Procentsatz daran gegenüber dem Festen beider Substanzen ist:

23,79% 32,18%

Der Theil des ganzen Unlöslichen, der nun noch blieb, erlitt, wie ein Parallelversuch zeigte, bei alkalischer Pancreasverdauung mit sehr wirksamem Pancreatin-Glycerin keine Gewichtsabnahme. Er musste also bestehen aus dem Neurokeratin Kühne's. Derselbe betrug:

0,3307 gr. 0,2637 gr.

des in Arbeit Genommenen, oder des ganzen Unlöslichen:

2,0376 gr. 1,2096 gr.

d. i. in Procenten desselben:

26,13% 14,13%

oder des Gesammtfesten:

6,2151% 4,5321%

Es ist also davon dem Procentsatze nach, sowohl gegenüber dem Festen des Gehirnes, wie es scheint, als auch dem Unlöslichen gegenüber mehr in der weissen als grauen Substanz enthalten.

Der Phosphor konnte in dem eben besprochenen Gehirnrückstande theils in der Asche als Erdphosphat, theils im Nuclein enthalten sein. Zur Bestimmung beider Mengen wurde nach der von Geoghegan[1]) befolgten Methode verfahren. Es wurden:

2,7260 gr. 2,4685 gr.

fein zerriebener Rückstand mit $BaCO_3$ gemengt und verbrannt. Das Baryum mit SH_2O_4 entfernt. Mit NH_4OH die phosphorsauren Erden gefällt. Der Phosphor im Niederschlage stammte aus der Asche, der im Filtrate aus dem Nuclein.

Es wurden gefunden in der Asche: P =

0,0039 gr. 0,0039 gr.

Im Nuclein:

0,0030 gr. 0,0016 gr

Auf den gesammten Rückstand berechnet in der Asche

0,0113 gr. 0,0191 gr.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 330.

In dem Nuclein:

0,0087 gr. 0,0054 gr.

Danach entspräche der Gehalt an Phosphor in der Asche wieder fast dem des neutralen phosphorsauren Calcium:

19,699% 20,094%

Er ist bei der grauen Substanz sogar etwas höher gefunden.

Im Nuclein sind laut der versuchten Gesammtbestimmung desselben und des Nucleinphosphors gefunden: P =

2,7335% 2,3139%

Kossel[1]) fand im feuchten Schafsgehirn: P =

0,0982%

vom Nuclein stammend.

Ich finde im feuchten Pferdegehirn denselben =

0,0081% 0,0046%

also viel weniger. Kossel findet das Verhältniss vom Nuclein-P zu Gesammt-P:

1 : 3,58

Ich habe gefunden:

1 : 48,0 1 : 64,0

Diese Differenzen sind so bedeutend, dass man sie nicht auf den Unterschied zwischen Schaaf- und Pferdegehirn schieben kann.

Mir will scheinen, als wenn die von Kossel gefundenen Zahlen für den Gesammt-Phosphorgehalt zu niedrig und die für den Nucleinphosphor zu hoch sind.

Nach von Bibra[2]) beläuft sich der Phosphorgehalt des Gehirnfettes für 100 Theile frisches Schaafsgehirn berechnet auf:

0,3306%.

Kossel hat fast ebenso viel als Gesammt-Phosphor gefunden, nämlich:

0,3532%

berechnet auf feuchtes Gehirn. Darin sind mit eingeschlossen der Phosphor der Salze, des Protagons und des Nucleins.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 7.

[2]) Berechnet nach Zahlen aus: «Vergleichende Untersuchung über die Gehirne des Menschen und der Wirbelthiere» von Bibra. Mannheim 1854.

Es müsste ohne Nuclein nur Fette + Protagon + Asche geben danach: P =

0,2548 %

also bedeutend weniger als die Fette nach v. Bibra allein.

Sollte nicht die Methode Kossel's gerade bei dem Gehirne noch anderweiten Phosphor als nur den des Nuclein im Rückstande zurücklassen? Nach dem Extrahiren mit verdünnter Salzsäure lässt er so lange mit siedendem Alkohol und zuletzt mit Aether extrahiren, bis eine Probe der letzteren Extrakte mit Soda und Salpeter verascht nur noch geringe Spuren von Phosphorsäure anzeigte. Es setzt sich unter Einwirkung der Wärme und des Alkohols, wie schon Bourgoin[1]) zeigte, aus unreinem Cerebrin (d. h. Protagon) als Zersetzungsprodukt ein P-haltiger schmieriger Körper ab. Dieser ist, wie jeder der diesen Körper unter Händen hatte, gefunden haben wird, nur und zwar sehr schwer in ganz siedendem Alkohol löslich und ist zum Theil nahezu unlöslich in Aether; daher lässt er sich kaum oder nur sehr schwer durch Auswaschen mit siedendem Alkohol oder mit Aether einem Filter, dem er anhaftet, entziehen. Während noch beträchtliche Mengen auf dem Filter zurückblieben, wird der abgelaufene Alkohol oder Aether zur Zeit nur Spuren von Phosphorsäure liefern. Mir hat es niemals gelingen wollen (wohl aus diesem Grunde) auch nach tagelangem Auswaschen mit siedendem Alkohol oder Aether ein ganz phosphorfreieis Filtrat zu erhalten.

Nach Jacksch[2]) sind im Gehirn eines 16 jährigen Knaben etwa 3 gr. Nuclein enthalten; das wäre, wenn wir von Bibra's Gewichtsbestimmungen für das Gehirn des Menschen zwischen 15 und 20 Jahren zu Grunde legen (im Durchschnitt = 1432,7 gr.) etwa 0,22%. Ich fand durchschnittlich beider Bestimmungen 0,25% im Pferdehirn.

Derselbe Autor fand P im Nuclein des Gehirnes des Menschen:

1,71% bis 2,08%

---

1) Jahresbericht für Thierchemie 1874, S. 69.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 13, S. 469.

Ich fand:

2,7335% 2,3139%

also höhere Zahlen.

Nach den Untersuchungen von Geoghegan[1]) ist gefunden worden laut den Zahlen für Nuclein, berechnet nach der Miescher'schen Formel, Nucleinphosphor 0,0137 %, also weit weniger als Kossel fand, aber mehr als ich gefunden habe.

Wie diese Differenzen zu erklären, ist vorläufig nicht zu sagen. Sie sind aber immerhin so gross, dass sie kaum durch die Eigenthümlichkeit des verschiedenen verarbeiteten Materials erklärt werden; sie kann nur verursacht sein durch eine verschiedene Behandlung desselben. Die Eigenschaften und Zusammensetzung der Nucleine sind vorläufig zu wenig bekannt; jedenfalls aber liegt in den verschiedeneu Befunden die Anregung gerade auch am Gehirne der Sache weiter nachzuforschen.

Fassen wir die im Vorigen besprochenen Zahlen in dem Procentsatze des Festen des Gehirns zusammen, so ergibt sich:

(Tabelle folgt auf nächster Seite.)

Daraus geht hervor:

I. Die im Wasser löslichen Bestandtheile finden sich da mehr, wo mehr Wasser vorhanden, also in der grauen Substanz. Das sind die löslichen Salze, das lösliche Albumin und extraktive organische Stoffe.

II. Asche nnd Organisches von weisser und grauer Substanz sind nahezu gleich. Nur bringt das Mehr der in Wasser löslichen Aschenbestandtheile ein geringes Uebergewicht in Letzterer an Anorganischem hervor.

III. Das Nuclein, das Aetherextrakt mit Ausnahme des freien Cholesterin (also das gebundene Cholesterin, das Lecithin und alles Unbestimmbare desselben) sind ebenfalls fast gleich in beiden Substanzen.

IV. Dagegen herrschen vor das Neurokeratin, das freie Cholesterin, und das Protagon mit Allem, was wohl noch

---

[1]) L. cit.

—	—	1,7167	**Anorganisches.**	2,4449	—	—
—	1,5352	—	Löslich } in Wasser.	—	2,1889	—
—	0,1815	—	Unlöslich } in Wasser.	—	0,2560	—
—	—	98,2833	**Organisches.**	97,5551	—	—
—	6,2150	—	**Neurokeratin.**	—	4,5321	—
—	0,9726	—	**Nuclein.**	—	0,8642	—
—	19,3327	—	**Albumin.**	—	30,8910	—
2,9143	—	—	Löslich in Wasser.	—	—	4,4651
16,4184	—	—	Unlöslich und Bindegewebe.	—	—	26,4267
—	7,7943	—	**Extrakt in aqu.**	—	11,2579	—
—	14,8204	—	**Cholesterin.**	—	10,3488	—
5,9715	—	—	Frei.	—	—	2,7388
8.8419	—	—	Gebunden.	—	—	7,6100
—	8,2420	—	**Protagon.**	—	4,6955	—
—	4,9954	—	**Flocken.**	—	2,2684	—
0,1876	—	—	I.	—	—	0,1217
4,8078	—	—	II.	—	—	2,1467
—	5,6810	—	**Unbestimmt.**	—	5,8711	—
4,4645	—	—	Aether löst; Alkohol nicht.	—	—	4,5838
1.2165	—	—	Aether nicht; Alkohol löst.	—	—	1,2873
—	30,2299	—	**Rest.**	—	26,8253	—
12,8815	—	—	**Lecithin aus P** } berechnet.	—	—	11,5143
17,3484	—	—	P-freies } berechnet.	—	—	15,3110

zu ihm gehört in der weissen Substanz; wenn nicht alle zusammen dieser einzig und allein angehören.

V. Während das unlösliche Albumin und Bindegewebe vorwiegend der grauen Substanz angehört, also demjenigen Theile, wo die überwiegende Menge der wässerigen Flüssigkeit circulirt.

Der Phosphorgehalt ordnet sich dem Vorigem nach folgendermassen. In 100 Theilen wässeriger Substanz sind in:

Asche . . .	0,0532	0,0554
Protagon . .	0,0258	0,0111
Aetherextrakt.	0,3115	0,2234
Nuclein . . .	0,0081	0,0046

Das sind in Procent des Festen in:

Asche . . .	0,1746%	0,2408%
Protagon . .	0,0837 «	0,0483 «
Aetherextrakt.	1,0225 «	0,9712 «
Nuclein . . .	0,0266 «	0,0199 «

Im Gesammtgehirn würden danach sein in:

Nuclein . . .	0,0064%
Protagon . . .	0,0184 «
Asche	0,0543 «
Aetherextrakt .	0,2678 «

Danach betrüge etwa die Gesammtmenge des Phosphors im Gehirne vom Pferde:

0,3470%

oder im Trockenrückstande:

1,2979%

Von dieser Menge würden auf den Aetherextrakt, also das am wenigsten Untersuchte, die überwiegende Menge, nämlich:

77%

auf die Asche etwa:

15—16%

kommen. Dem Protagon gehören nur an:

5—6%

und die geringste Menge entfällt auf das Nuclein etwa:

1½—2%.

ORGA…

I. Aether, II. Alkohol löst.				
…t.	schwer.	leicht I.		c…
…varm nur, kaum kalt.			nicht II.	
—	—	—	—	
—	—	—	—	
—	—	—	—	
—	0,0280	—	—	
—	—	0,6300	—	
—	0,4938	—	—	
—	—	—	0,6636	
	Spuren			
—	—	1,7505	—	
—	—	6,1705	—	
	(zu II 0,3389)			
—	—	—	—	0…
—	—	—	—	
…301	—	—	—	
—	—	—	0,3908	
…061	—	—	—	
—	—	—	—	0,…
—	—	—	—	
—	—	—	—	
—	—	—	—	
				22…

Untersuchungen über die durch Magensaft unlöslich bleibenden stickstoffhaltigen Substanzen der Nahrungs- und Futtermittel.

Von

Dr. A. Stutzer in Bonn.

(Der Redaktion zugegangen am 27. November 1884).

Vor einigen Jahren machte ich darauf aufmerksam, dass die Nh-Bestandtheile der vegetabilischen Nahrungs- und Futtermittel, abgesehen von nur selten und in minimalen Mengen darin vorkommenden Alkaloiden und Glycosiden, in der Regel aus drei verschiedenen Gruppen von Stoffen bestehen, und theilte gleichzeitig Methoden mit, nach denen diese drei Gruppen von einander getrennt werden können[1]).

In fast allen Vegetabilien finden wir in Wasser lösliche und mit Kupferoxydhydrat in neutralen Flüssigkeiten lösliche Verbindungen bildende Amidstoffe, deren Haupt-Repräsentant das Asparagin ist; eine zweite Gruppe umfasst die Eiweissstoffe, welche bei der Verdauung im thierischen Organismus durch das im Magen enthaltene salzsaure Pepsin gelöst werden können und von den Amiden chemisch sich dadurch unterscheiden, dass sie mit Kupferoxydhydrat in neutralen Flüssigkeiten unlösliche Verbindungen bilden. Ausserdem enthalten die vegetabilischen Nahrungs- und Futtermittel als dritte Gruppe gewisse stickstoffhaltige Substanzen, welche weder in Wasser noch in salzsaurer Pepsinlösung löslich sind, und möchte ich diese Letzteren vorläufig als «schwerlösliche Nh-Substanz» bezeichnen, da die

[1]) Journal für Landwirthschaft von Henneberg und Drechsler 28. Jahrg. 1881, S. 103, 195, 435.

früher von mir gewählte Benennung «Nuclein» zu Vorstellungen Anlass gegeben hat, die bei der Wahl des Namens «Nuclein» mir ganz fern lagen. In mehrfacher Hinsicht dürfte es von Interesse sein, das Verhalten der schwer löslichen Nh-Substanzen gegen Fermentlösungen genauer kennen zu lernen, um event. aus solchen ausserhalb des thierischen Organismus unter geeigneten Verhältnissen gemachten Beobachtungen Schlussfolgerungen über den Nährwerth dieser fast unbekannten Stoffe machen zu können, da durch Versuche an lebenden Thieren es kaum möglich sein wird, in dieser Beziehung ein klareres Bild sich zu verschaffen, weil in letzterem Falle die betreffenden Resultate durch die Thätigkeit der im Darm reichlich vorhandenen Fäulniss-Bakterien, sowie durch die durch den Stoffwechsel bedingten und den zu untersuchenden Excrementen beigemengten Nh-Auswurfstoffe (Gallenbestandtheile, Mucin etc.) sehr leicht getrübt werden können.

Nachdem ich zunächst durch zahlreiche Untersuchungen festgestellt hatte, dass die schwer löslichen Nh-Bestandtheile durch das Ferment der Magenschleimhaut unlöslich bleiben[1]), bezweckte ich durch weitere Versuche die Wirkung von alkalischem Pancreassaft auf Nh-Nährstoffe zu beobachten und verwendete Cocosnüsse, welche durch Pressen vom grössten Theile ihres Oeles befreit waren und unter dem Namen «Cocoskuchen» einen für Fütterungszwecke dienenden Handelsartikel bilden, in der Weise als Untersuchungsobjekt, dass ich zu ermitteln suchte, wie viel von dem darin enthaltenen Stickstoff einerseits durch Einwirkung von saurer Pepsinlösung und andererseits von in verschiedener Weise zubereiteten Pancreasauszügen ungelöst blieb[2]). Die Versuche ergaben, dass alkalischer Pancreassaft nicht so energisch auf Proteinstoffe einwirkt wie salzsaure Pepsinlösung, es wurden in einzelnen Fällen durch künstliche Verdauung mit Pancreas Resultate erhalten, welche den durch Pepsinlösung bewirkten zwar sehr nahe kamen, indess waren unter den angegebenen

[1]) Loco citato.

[2]) Journal für Landwirthschaft, 29. Jahrg., S. 473.

Verhältnissen in keinem einzigen Falle die durch Pancreasferment erhaltenen Verdauungs-Coefficienten günstiger als die durch Pepsin-Verdauung erzielten. Ich glaubte davon Abstand nehmen zu dürfen, andere thierische Secrete auf Eiweiss verdauende Eigenschaften zu prüfen, weil gar nicht festgestellt ist, ob ausser Pepsin und Pancreasferment ähnlich wirkende Fermente im thierischen Organismus existiren. Die Ansicht, dass der Darmsaft Eiweiss verdauende Wirkungen besitzt, ist bisher nicht erwiesen und fehlen nach Ansicht von Hoppe-Seyler[1]) überhaupt die genauen Nachweise der Existenz eines besonderen Darmsaftes. Sollten später neue, die Verdauung von Eiweiss bewirkende Fermente im thierischen Organismus aufgefunden werden, so ist wohl anzunehmen, dass dieselben schwächer wie Pepsin und Pancreas wirken, weil anderenfalls ihr Vorkommen längst mit Sicherheit constatirt wäre, und glaube ich somit eine gewisse Berechtigung zu haben, alle diejenigen Nh-Stoffe, welche unter geeigneten Verhältnissen durch die Fermente der Magenschleimhaut und Pancreasdrüse nicht gelöst werden können, als thatsächlich werthlos für die Ernährung des thierischen Organismus anzusehen.

Die erwähnten Versuche mit Pancreasauszügen habe ich in neuerer Zeit fortgesetzt, nachdem inzwischen von Pfeiffer durch Fütterungsversuche an lebenden Thieren hinsichtlich gewisser Futtermittel der Nachweis erbracht war, dass ein Theil des durch Pepsinlösung unlöslichen Stickstoffes im animalen Organismus sich dennoch aufzulösen vermag[2]).

Pfeiffer nimmt als selbstverständlich an, dass die durch Fütterungsversuche beobachtete Löslichkeit der Proteïnstoffe für die Ermittelung des Nährwerthes derselben die höchste entscheidende Instanz ist, und kann ich ihm ohne Weiteres hierin nicht vollständig beipflichten, indem ich daran erinnere, zu welchen Schlussfolgerungen man bei einer anderen vegetabilischen Substanz, der Cellulose, durch Fütterungsversuche vor den Versuchen von Tappeiner gelangt war, und wird

---

1) Hoppe-Seyler: Physiol. Chemie, S. 270.
2) Jourual für Landwirthschaft, 31. Jahrg., S. 221.

es in Zukunft vielleicht nöthig sein, neben den Fütterungsversuchen gleichzeitig eine Classificirung der in dem zu verabreichenden Futter enthaltenen Nährstoffe nach Massgabe ihres Verhaltens zu chemischen Reagenzien und zu Fermentlösungen ausserhalb des thierischen Organismus unter Ausschluss der «geformten Fermente» und der bei Fütterungsversuchen lästigen Stoffwechselprodukte vorzunehmen.

Bei meinen neuen Versuchen über Wirkung von Pancreasferment verwendete ich verschiedene Nahrungs- und Futtermittel, während ich früher (abgesehen von einem ganz vereinzelten, durch keine Controlanalyse bestätigten Versuch mit Luzerneheu) nur mit den Nh-Stoffen der Cocosnuss und Palmnuss (von Cocos nucifera und Elaeis guineensis) gearbeitet hatte. Der Pancreasauszug wurde hergestellt, indem ich vom Fett möglichst befreites Rinds-Pancreas 24 Stunden an der Luft liegen liess[1]), dann mit Sand fein zerrieb, mit verdünntem Glycerin übergoss, nach 4—6 Tagen die Flüssigkeit abpresste und filtrirte. Zu 400 gr. Pancreas nahm ich 1 Liter Wasser und 1 Liter Glycerin. Durch nachfolgenden Versuch überzeugte ich mich von der Wirksamkeit des Pancreasauszuges: Auf je 2 gr. fein gemahlenen Palmkernkuchen, von welchem durch künstliche Magenverdauung 0,541 % N ungelöst blieben, liess ich, in unverdautem Zustande, 8 Stunden lang bei + 40° einwirken:

a) 100 cbcm. Pancreaslösung mit ½ % Soda versetzt, und fand in dem unlöslichen Rückstande = 0,550 % N.

b) 100 cbcm. Wasser mit ½ % Soda versetzt, liessen ungelöst = 1,019 % N.

Versuche mit Pancreas müssen bekanntlich bei alkalischer Reaktion vorgenommen werden und habe ich durch einige, zunächst zu erwähnende Versuche zu ermitteln versucht, ob die Sodalösung an und für sich, ohne Pancreas, eine gewisse Menge der «schwer löslichen» N-Verbindungen zu lösen vermag, oder ob die Lösung lediglich durch das Pancreasferment bewirkt wird.

---

1) Cf. Heidenhain: Pflüger's Archiv, Bd. X., S. 582.

1. Wirkung von Soda auf die schwer löslichen Nh-Stoffe von Roggenstroh.

Das zur Untersuchung dienende fein gemahlene Roggenstroh enthielt an Stickstoff, durch künstliche Magenverdauung unlöslich bleibend:

1.	0,206 % N
2.	0,206 » »
Mittel =	0,206 % N.

Nach darauf folgendem, mehrstündigen Digeriren mit ½ procentiger Sodalösung bei + 40° C. blieben ungelöst:

3.	0,136 % N
4.	0,075 » »
Mittel =	0,105 % N.

Es waren demnach durch das kohlensaure Natron relativ erhebliche Mengen N in Lösung gegangen.

2. Versuche mit Grasblättern.

Die Ermittelung des durch künstliche Magenverdauung unlöslichen Stickstoffes ergab:

5.	0,490 % N
6.	0,460 » »
Mittel =	0,475 % N.

Durch nachfolgendes Digeriren mit ½ procentiger Sodalösung (auf wasserfreie Soda berechnet) blieb unlöslich:

7. 0,365 % N.

3. Versuche mit «Palmkernkuchen»

(den gepressten Samenkernen von Elaeis guineensis).

Nach Behandeln mit Pepsinlösung waren unlöslich:

8	0,540 % N
9.	0,542 » »
Mittel =	0 541 % N.

Darauf mit ½ procentiger Sodalösung digerirt:

10.	0,331 % N
11.	0,344 » »
12.	0,300 » »
Mittel =	0,325 % N.

In der nach Einwirkung von Sodalösung erhaltenen Flüssigkeit liessen sich, nachdem grössere Mengen Palmkernkuchen in Arbeit genommen waren, nach dem Neutralisiren,

Zusatz von CuO_2H_2, Abfiltriren und Auswaschen des Niederschlages in letzterem minimale Mengen N mit Sicherheit nachweisen (0,075%). Aus welchen Bestandtheilen diese N-Verbindungen bestehen, ob Soda nur lösend oder gleichzeitig zersetzend wirkte und im letzteren Falle Spuren von Eiweiss aus den «schwer löslichen Nh-Stoffen» gebildet wurden, ist eine Frage, die vorläufig nicht beantwortet werden kann. Sodann wurde Palmkernkuchen, welcher an Eiweiss-N und schwer löslichem N zusammen = 2,560% enthielt, direkt mit $^1/_2$ procentiger Sodalösung (ohne vorherige Pepsinverdauung) digerirt und waren nun unlöslich:

13.	0,912 % N
14.	0,920 » »
15.	0,011 » »
Mittel =	0,947 % N.

Durch spätere Behandlung des von Soda nicht angegriffenen Rückstandes mit salzsaurer Pepsinlösung blieben unlöslich:

16.	0,402 % N
17.	0,390 » »
Mittel =	0,396 % N.

Es hatte somit auch in diesem Falle die Soda sowohl auf das eigentliche Eiweiss, wie auf die durch Pepsin unlöslich bleibenden Nh-Stoffe lösend eingewirkt.

4. Wirkung von alkalischem Pancreasauszug auf den schwer löslichen N des Palmkernkuchens.

Das zur Untersuchung benutzte Futtermittel enthielt nach der Behandlung mit frisch bereiteter salzsaurer Pepsinlösung[1]) an nicht löslichem Stickstoff:

18.	0,458 % N
19.	0,466 » »
20.	0,460 » »
Mittel =	0,461 % N.

Auf den unverdauten, aus 2,0000 gr. Palmkernkuchen erhaltenen Rückstand liess ich bei jedem der folgenden Versuche[2]) 100 cbcm. Pancreasauszug, nachdem derselbe mit

[1]) Cf. Journal für Landwirthschaft, Bd. 29, S. 478.

[2]) Dieselben Verhältnisse wurden auch bei den anderen Nahrungs- und Futtermitteln eingehalten.

kohlensaurem Natron alkalisch gemacht war, 6—8 Stunden lang bei + 40° einwirken und zwar setzte ich bei Nr. 21 und 22 = ½ %, bei Nr. 23 und 24 = 1 % kohlensaures Natron (auf wasserfreies Salz berechnet) hinzu. Die Flüssigkeit wurde dann filtrirt, mit Wasser der unlösliche Rückstand ausgewaschen, der letztere getrocknet und zur N-Bestimmung benutzt. Resultate:

21.	0,451 % N
22.	0.435 » »
23.	0,435 » «
24.	0,482 » »
Mittel =	0,450 % N.

Später wiederholte ich die Versuche mit einem 10 Tage alten Pancreasauszuge, dem zur besseren Haltbarkeit etwas Chloroform zugesetzt war, und fand:

25.	0,487 % N
26.	0,487 » »
27.	0.487 » »
28.	0,451 » »
Mittel =	0,478 % N.

Nr. 25 und 26 hatten = ½ %, Nr. 27 und 28 = 1 % Sodazusatz erhalten. Bei den Versuchen Nr. 21—24 war demnach ein Plus von 0,01 % N, bei Nr. 25—28 ein Minus von 0,01 % N gegen Pepsinverdauung gefunden, welche Resultate jedenfalls innerhalb der zulässigen analytischen Fehlergrenzen liegen dürften und waren somit die durch Pepsin unlöslich bleibenden Nh-Bestandtheile des Palmkuchens durch Pancreasferment nicht angegriffen. Auch grössere Mengen Pancreas wirken nicht lösend und wurde selbst durch Anwendung der doppelten Menge, 1 % Soda enthaltenden Pancreasauszuges kein N aus den mit Pepsin behandelten Palmkernkuchen gelöst.

Die gleichen Beobachtungen hatte ich schon früher bei den Nh-Bestandtheilen der Cocosnüsse und Palmnüsse gemacht[1]) und erkläre ich mir die Thatsache, dass ½—1 procentige Sodalösung ohne Ferment energischer wirkte als

[1]) Journal für Landwirthschaft, Bd. 29, S. 486.

bei Gegenwart von Pancreasauszug dadurch, dass die N-lösende Wirkung der Soda durch gleichzeitig vorhandene, aus der Pancreasdrüse herstammende organische Stoffe abgeschwächt und event. ganz aufgehoben wird.

5. Wirkung von Pancreas auf den schwer löslichen N des Heues.

Ein Gemisch von Luzern- und Grasheu wurde fein gemahlen und nur die feineren, vorzugsweise den Blättern entstammenden Antheil zu folgenden Versuchen benutzt; das Heu enthielt an N, durch Pepsinlösung unlöslich bleibend:

29.	0,293 % N
30	0,293 » »
Mittel =	0,293 % N.

Der Rückstand von der Pepsinverdauung enthält nach der Behandlung mit Pancreasauszug;

(+ 1% Soda)	31.	0,220 % N
»	32.	0,207 » »
	Mittel =	0,213 % N.
(+ 1/2% Soda)	33.	0,281 % N
«	34.	0,261 » »
	Mittel =	0,271 % N.

Bei Versuch 31 und 32 sind somit 27 %, bei 33 und 34 = 7 % des durch Pepsin unlöslichen Stickstoffs gelöst.

6. Wirkung von Pancreas auf den schwer löslichen N des Cacao.

Ein nach holländischem Verfahren hergestelltes Cacaopulver enthält an N durch Pepsin unlöslich bleibend:

35.	1,554 % N
36.	1,526 » »
Mittel =	1,540 % N.

Durch nachfolgende Pancreasverdauung unter Zusatz von 1/2 % Soda waren unlöslich:

37.	1,139 % N
38.	1,113 » »
Mittel =	1,126 % N.

Gelöst sind demnach durch Pancreas = 26 % der schwer löslichen Nh-Stoffe.

7. Wirkung des Pancreas auf den schwer löslichen N des getrockneten Fleisches.

Das von der Aktiengesellschaft Carne pura in den Handel gebrachte Fleischmehl ist ein gleichmässiges, haltbares Produkt, mit dem ich folgende Versuche ausführte, nachdem dasselbe sehr fein gemahlen und mit Aether extrahirt war, um nach Entfernung des Fettes eine schnellere Filtration der mit Fleischmehl behandelten Flüssigkeiten zu ermöglichen.

Das Präparat enthielt nach Behandlung mit salzsaurer Pepsinlösung an nicht löslichem N:

39.	0,219 % N
40.	0,221 » »
Mittel =	0,220 % N.

Durch nachfolgende Pancreasverdauung in Gegenwart von ½ % Soda blieben unlöslich:

41.	0,157 % N
42.	0,157 » »
43.	0,188 » »
Mittel =	0,167 % N.

Es sind somit 24 % des schwer löslichen Stickstoffs durch Pancreas gelöst.

8. Wirkung von Pancreas auf den schwer löslichen N von Schiffszwiback.

Fein gemahlener, aus Hamburg bezogener Schiffszwiback enthielt an N durch Pepsinlösung unlöslich bleibend:

44.	0,240 % N
45.	0,240 » »
Mittel =	0,240 % N.

Durch nachfolgende Pancreasverdauung in Gegenwart von 1 % Soda blieben unlöslich:

46.	0,200 % N
47.	0,184 » »
48.	0,212 » »
Mittel =	0,198 % N.

In Gegenwart von ½ % Soda:

49	0,240 % N
50.	0,240 » »
Mittel =	0,240 % N.

Es sind demnach mit 1 % Soda = 27 % in Lösung gegangen.

Die früher von mir mit Cocos- und Palmkernkuchen angestellten Verdauungsversuche hatten, wie schon erwähnt, ergeben, dass alkalische Pancreaslösung von den durch Magensaft unverdaulichen Nh-Bestandtheilen nichts zu lösen vermag und war es jedenfalls das Spiel eines unglücklichen Zufalls, dass ich zu den damaligen Versuchen nur solche Futtermittel benutzte, denen thatsächlich diese Eigenschaft zukommt. Die neueren Versuche zeigen, dass von anderen Nahrungs- und Futtermitteln ein Theil des durch Pepsin unlöslichen Stickstoffs durch alkalischen Pancreassaft verdaut werden kann, und würde demnach zur Feststellung des Verdauungs-Coefficienten der Proteinstoffe durch Versuche ausserhalb des thierischen Organismus — falls dies überhaupt möglich ist — nach geschehener künstlicher Verdauung mit Magensaft eine Verdauung mit alkalischem Pancreassaft unerlässlich sein, auf welche letztere Operation ich in meinen früheren Mittheilungen keinen besonderen Werth legen zu müssen glaubte, weil zufällig die schwer löslichen Nh-Bestandtheile der damals benutzten Untersuchungsobjekte (Cocos- und Palmnuss) als durchaus widerstandsfähig gegen Pancreas sich erwiesen. Pfeiffer hat durch Versuche an lebenden Thieren[1]) gefunden, dass von den in Pepsinlösung künstlich unverdaulichen Nh-Bestandtheilen der Futtermittel 20—30 % im thierischen Organismus verdaut werden können, und ergaben meine bei einigen Nahrungs- und Futtermitteln durch künstliche Verdauungsversuche mit Pancreas ausgeführten Untersuchungen, dass von dem in Pepsin unlöslichen Stickstoff unter gewissen Verhältnissen ebenfalls einige 20 % gelöst werden können, wenn der Pancreasauszug 1 % kohlensaures Natron enthält, welcher Gehalt von Heidenhain als Optimum bezeichnet wird.[2]) Bei besonders präparirten und äusserst fein gemahlenen

---

[1]) Loco citato.

[2]) Genau 0,9—1,2 % nach Heidenhain, Pflüger's Archiv, Bd. X, S. 576.

Nahrungsmitteln (Cacaopulver, Carne pura) erwies sich schon ein Gehalt von 1/8 % Soda als sehr wirksam.

Die bemerkenswerthe Uebereinstimmung zwischen den Resultaten natürlicher und künstlicher Verdauung, die sich aus den Beobachtungen von Pfeiffer und aus meinen neueren Versuchen ergiebt, dürfte zu weiteren Versuchen in der angedeuteten Richtung ermuthigen.

Ueber Trennung des Casein vom Albumin in der menschlichen Milch.

Von

F. Hoppe-Seyler.

In einer vor einigen Monaten erschienenen Schrift von Ph. Biedert, betitelt «Untersuchungen über die chemischen Unterschiede der Menschen- und Kuhmilch. Stuttgart, Enke 1884», wird auf Seite 23 gesagt: «Betreffs der schwefelsauren Magnesia muss ich noch bemerken, dass ich das von Tolmatscheff angegebene Verfahren der Abscheidung des Casein durch Versetzung der Menschenmilch mit so viel schwefelsaurer Magnesia, als sich darin nur löste, mehrmals ohne Erfolg versucht habe. Auch erweckt die Beschreibung von Tolmatscheff selbst über seine Fällungen wenig Vertrauen.»

Dieser Passus und ein auf denselben sich beziehender Brief, den ich kürzlich von Tolmatscheff in Kasan erhalten habe, veranlassen mich zu folgender Erklärung.

Die quantitativen Analysen der menschlichen Milch, welche Tomatscheff in meinem Laboratorium ausgeführt hat und welche in meinen medicinisch-chemischen Untersuchungen Heft 2, 1867, S. 272—278 kurz mitgetheilt sind, gaben den ersten Einblick in die quantitative Zusammensetzung der menschlichen Milch bezüglich der Eiweissstoffe, während die qualitativen Unterschiede gegenüber der Kuh- und Ziegenmilch zum Theil bereits viel früher von Simon, Lehmann[1]) und Anderen festgestellt waren. Von der Richtigkeit der Angaben Tolmatscheff's habe ich mich sowohl bei der Ausführung seiner Arbeiten selbst, als auch

---

[1]) G. Lehmann, Lehrbuch der physiologischen Chemie. 2. Aufl. Leipzig 1850. Bd. 1, S. 387 und Bd. 2, S. 334.

durch spätere eigene Bestimmungen in nicht geringer Zahl überzeugt. Weil die Bestimmung des Casein nach Tolmatscheff durch die grosse Quantität von Magnesiumsulfat sehr umständlich ist, auch meine Versuche damals noch unbeendet waren, habe ich in der dritten Auflage meines Handbuchs der physiologisch-chemischen Analyse diese Methode nicht erwähnt, dagegen in der vierten und fünften Auflage die Trennung Tolmatscheff's zur Bestimmung des Albumin festgehalten. Weitere Versuche zeigten mir, dass es zweckmässiger sei, statt des Casein in einer gesonderten Milchportion die Summe der Albuminstoffe zu bestimmen. Makris[1]) untersuchte auf meine Veranlassung die Zusammensetzung und das Verhalten des menschlichen Casein gegenüber dem Casein der Kuhmilch, prüfte ausserdem das Verfahren von Tolmatscheff, dann sind von mir noch eine Reihe von Bestimmungen der Summe der Eiweissstoffe und des nach Tolmatscheff erhaltenen Albumin in der Menschenmilch ausgeführt. Bei allen diesen Bestimmungen ist die Zuverlässigkeit der Angaben von Tolmatscheff und die Genauigkeit der Trennung des Casein vom Albumin nach seiner Methode unzweifelhaft erwiesen.

Von Biedert ist 1869, also zwei Jahre nach der Publikation von Tolmatscheff's Arbeit, in einer Dissertation, deren Inhalt in der oben citirten Schrift wiedergegeben ist, die Nichtfällbarkeit des Casein der menschlichen Milch durch Säurezusatz als eine neue Entdeckung beschrieben, obwohl Simon, Lehmann, Tolmatscheff dieselbe bereits erwähnt hatten. Auch in einer 1880 erschienenen Schrift von Biedert «Die Kinderernährung im Säuglingsalter. Stuttgart, Enke» ist dieser unrichtige Standpunkt festgehalten, und nachdem der Herr Verfasser von mir auf die Arbeiten von Tolmatscheff und von Makris aufmerksam gemacht ist, wird von ihm der oben citirte Passus geschrieben. Ohne mich im Uebrigen auf eine Kritik der Arbeiten von Biedert einzulassen, habe ich schliesslich nur zu bemerken, dass ich

---

[1]) C. Makris, Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Inaug.-Diss., Strassburg 1876, Kayser.

in seinen bezeichneten Schriften irgend welche wesentliche neue Charaktere der Albuminstoffe der menschlichen und der Kuhmilch nicht gefunden habe und dass der oben citirte Passus ganz irrthümlich ist. Herr Biedert hat nie menschliche Milch mit Magnesiumsulfat gesättigt trotz seiner Behauptung, denn alle Versuche haben sonst ergeben, wie Tolmatscheff es zuerst geschildert hat, dass das Casein hierbei gefällt wird, während das Albumin in Lösung bleibt. Diese Trennung ist übrigens die nämliche, welche Hammarsten in neuerer Zeit mit Glück für die Scheidung der Globuline von den Albuminen angewendet hat.

Ich erinnere bei dieser Gelegenheit noch daran, dass eine Angabe von Schmidt-Mülheim[1]), mit welcher er seine Mittheilung über Nachweis von Cholesterin in der Milch beginnt: «Cholesterin, bisher nicht als Bestandtheil der Milch erkannt, vermochte ich folgendermassen in der Kuhmilch nachzuweisen etc.» unrichtig ist. Tolmatscheff[2]) hat 16 Jahre früher nicht allein Cholesterin neben Lecithin nachgewiesen in der menschlichen Milch, sondern auch quantitativ bestimmt. In der Kuhmilch hatte ich es damals bereits gefunden. Als allgemeiner Bestandtheil der Milch ist es neben Lecithin deshalb von mir angegeben[3]).

---

1) Pflüger's Archiv, Bd. 30, S. 384, 1883.

2) A. a. O.

3) Physiologische Chemie, S. 725, 1881.

Ueber eine neue Reaction auf Kohlenoxydhämoglobin.

Von

Stanislaus Zaleski.

Assistent am pharmakologischen Institut zu Dorpat.

(Der Redaktion zugegangen am 5. Dezember 1884.)

Bei Gelegenheit einer toxikologischen Untersuchung bin ich auf folgende neue Kohlenoxydreaktion aufmerksam geworden:

Kupferchlorürlösungen in Salzsäure oder Ammoniak absorbiren Kohlenoxyd in beträchtlicher Menge. Es war zu erwarten, dass, wenn man eine solche Lösung von möglichst neutraler Reaction auf Kohlenoxydhämoglobin einwirken lässt, die Affinität dieser Lösung zu Kohlenoxyd wahrscheinlich grösser sein würde, als die des Hämoglobins. Zu diesem Zwecke bereitete ich salzsaure Kupferchlorürlösungen von verschiedener Concentration und stumpfte dieselben mit Ammoniak ab. Jede der betreffenden Lösungen wurde aber nicht gleich stark abgestumpft, sondern ich verwandte Lösungen von schwach saurer bis zu schwach alkalischer Reaktion. Einige Tropfen dieser Kupferchlorürlösung genügten, um in 5—10 cbcm. Blut nachfolgende Erscheinungen hervorzurufen: Kohlenoxydhaltiges Blut scheidet nach einigen Minuten am Boden eine ziegelrothe, dicke, flockige Masse ab, während gewöhnliches Blut einen dunklen, chocolad-braunen Bodensatz liefert. Dieser Farbenunterschied tritt besonders deutlich hervor, wenn man diese Niederschläge längere Zeit sich absetzen lässt, dann die darüberstehende Flüssigkeit decantirt und die Rückstände mit Wasser versetzt.

Diese Thatsache veranlasste mich auch, die Einwirkung anderer Kupferpräparate auf kohlenoxydhaltiges und genuines Blut näher zu untersuchen. Zu diesem Zwecke habe ich zahlreiche Reaktionen mit Kupfersulfat-, Kupferchlorid-, Kupferacetat- und Kupfernitratlösungen ausgeführt, indem ich auch hier den Grad der Concentration der Reagentien, sowie das quantitative Verhältniss derselben zur Blutprobe empirisch zu ermitteln versuchte. Zuvor ist zu constatiren, dass jedes der eben erwähnten Kupferpräparate in der Färbung beider parallelen Blutproben dieselben Erscheinungen hervorrief, wie es bei der Reaktion mit salzsaurer, resp. ammoniakkalischer Kupferchlorürlösung der Fall war. Die Kupferoxydlösungen haben der erwähnten Chlorürlösung gegenüber den Vorzug bequemerer Darstellung und grösserer Haltbarkeit.

Von dem betreffenden Salze wird eine gesättigte Lösung mit dem 3fachen Volumen Wasser verdünnt. Von dem Blute werden 2 cbcm. mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt. In den 4 cbcm. der so erhaltenen Blutprobe sind von der $CuSO_4$- oder $Cu(NO_3)_2$-Lösung drei Tropfen, von der $CuCl_2$-Lösung zwei Tropfen, von der Kupferacetatlösung sieben Tropfen hinzuzufügen. Nach dem Zusatz des Reagens ist das Probirgläschen stark durchzuschütteln. Wenn man einen Tropfen weniger nimmt, ist nicht zu erwarten, dass die Reaktion eintritt; wenn 1—2 Tropfen zu viel angewandt wird, so ist die Reaktion zwar noch wahrnehmbar, aber nur vorübergehend. Durch besondere Versuche habe ich mich davon überzeugt, dass die übrigen Gase, welche vom Blut absorbirt werden können: Sauerstoff, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff Chloroform, Cyanwasserstoffsäure, Stickstoffoxydul, die Reaktion **nicht** gaben.

Das Kohlenoxydblut bewahrt die Fähigkeit auf Kupferlösungen zu reagiren, auch nach 12tägigem Stehen bei Zimmertemperatur. Leider ist die Empfindlichkeit der Reaktion keine grosse. Mischt man gesättigtes Kohlenoxydblut mit dem gleichen Volumen gewöhnlichen Blutes, so ist die Reaktion noch ziemlich deutlich. Beim Vermischen eines Volumens Kohlenoxydblutes mit drei Volumen gewöhnlichen Blutes

wird die Reaktion schon unzuverlässig. Der Grad der Empfindlichkeit kommt also dem der Salkowski'schen Reaktion gleich, welche nach meinen Erfahrungen zu den zuverlässigsten gehört. Schmelzt man das Glasrohr, in dem die Reaktion vorgenommen wird, zu, so ist die Reaktion noch nach vier Wochen deutlich zu erkennen. Der Kupfersalzzusatz stört in keiner Weise die spectroscopische Untersuchung: die mit Kupfersalzlösung versetzte Blutprobe zeigt die charakteristische Absorptionsstreifen, sowohl vor als nach der Reduktion mit Schwefelammonium.

Es blieb also nur übrig, die Zuverlässigkeit der Reaktion durch Thierversuche zu prüfen. Zu diesem Zweck habe ich von den mit Kohlenoxyd vergifteten Thieren in verschiedenen Stadien der Vergiftung und auch nach dem Tode Blutproben entnommen und überzeugte mich stets, dass die charakteristische Färbung des Niederschlages nach dem Eintröpfeln irgend eines der vier Kupferpräparate eintrat und die charakteristische Färbung mehrere Tage, in eingeschmolzenen Röhren sogar 3—4 Wochen sich erhielt. Die Reaktion wurde nicht wesentlich gestört durch langdauerndes Klopfen des Blutes behufs der Defibrinirung, oder 1—1½ stündige künstliche Athmung des durch Kohlenoxydverbindung verendeten Thieres. Die Controlversuche an den Thieren mit allen anderen, oben bezeichneten Gasen haben rein negative Resultate geliefert. Es ist gleichgültig, ob man von dem mit Kohlenoxyd vergifteten Thiere die Probe gleich nach dem Tode, oder erst nach einigen Tagen von der Leiche nimmt, ob man dieselbe bei der Zimmertemperatur, oder mehrere Tage in der Kälte bis zur Erstarrung liegen lässt. In folgenden Sätzen stelle ich die Resultate meiner Untersuchungen zusammen:

1. In die Reihe der Farbenreaktionen auf Kohlenoxydhämoglobin verdient die mit Kupfersalzlösungen aufgenommen zu werden.
2. Aus diesem Grunde ist sie in forensischer Hinsicht beachtenswerth.
3. Die Kupferreaktion zeichnet sich dadurch vor den übrigen aus, dass die charakteristische Farbe auch an

der Luft, in offenen Gefässen, wenn man dieselben nur ruhig stehen lässt, sich erhält.

4. Sie erlaubt uns in derselben Portion die Anwesenheit des Kohlenoxyds noch spectralanalytisch darzuthun.
5. Sie eignet sich behufs forensischer Zwecke zum Aufbewahren in zugeschmolzenen Röhren.

Dorpat, den 18. November 1884.

Pharmakologisches Institut.

Ueber das Vorkommen der Phenacetursäure im Harn und die Entstehung der aromatischen Substanzen beim Herbivoren.

Von

E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 11. Dezember 1884.)

In gemeinschaftlich mit meinem Bruder angestellten Versuchen habe ich die Hydrozimmtsäure als frühzeitig auftretendes Produkt der Eiweissfäulniss aufgefunden; wir haben dann ausserdem festgestellt, dass diese Säure im Organismus vollständig zu Benzoësäure oxydirt und als Hippursäure ausgeschieden wird. Wir hielten uns danach für berechtigt[1]), anzunehmen, dass die Hippursäure des normalen Harns, soweit diese überhaupt aus dem Eiweiss und nicht aus mit der Nahrung eingeführten aromatischen Substanzen hervorgeht, gleichfalls aus im Darmkanal gebildeter Hydrozimmtsäure entsteht. Sehr zu Gunsten dieser Ansicht sprach die Beobachtung von Schotten[2]), dass nach der Einnahme einer grossen Quantität von paraoxybenzoësaurem Natron, welches als Antisepticum wirkt, die Hippursäure aus dem Harn verschwindet.

Die Richtigkeit dieser Anschauung liess sich nun noch weiterhin prüfen. — Die Hydrozimmtsäure ist sehr häufig,

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 170.

2) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 23.

fast constant in Fäulnissmischungen von Phenylessigsäure begleitet, wie wir demnächst näher ausführen werden. Von dieser Säure haben wir nachgewiesen, dass sie im Körper in die entsprechende Glycocollverbindung in «Phenacetursäure» übergeht. Gelang es, diese Säure auch im genuinen Harn aufzufinden, so war damit offenbar eine weitere, sehr wichtige Stütze für unsere Annahme gegeben. Die Phenylessigsäure ist bisher als Oxydationsprodukt des Eiweiss nicht gefunden, sondern ausschliesslich durch Fäulniss daraus zu erhalten. Man kann für sie also nicht, was für die Benzoësäure möglich ist, eine Entstehung durch Oxydation im Körper annehmen, sondern nur die Bildung durch Fäulniss im Darm. Ist man aber für diese Säure zu dieser Annahme genöthigt, so liegt gewiss kein Grund vor, für die Hippursäure von der Abstammung aus, durch Fäulniss gebildeter, Hydrozimmtsäure abzusehen.

Dieses war der Gesichtspunkt, der mich zur Aufsuchung der Phenacetursäure im Harn bestimmte.

Es gelang mir nun in der That wiederholt, bei der Verarbeitung von je 5 Liter ganz frischen menschlichen Harns auf Hippursäure aus den Mutterlaugen dieser Säure eine völlig weisse krystallisirte Säure vom Schmelzpunkt 142° zu isoliren, welche sich beim Erhitzen im Röhrchen und auf dem Platinblech wie Phenacetursäure verhielt und aller Wahrscheinlichkeit nach die gesuchte Säure war, allein stets war ihre Menge äusserst gering und sie wurde zudem nicht constant gefunden. Sowie die Verarbeitung des Harns neben Hippursäure Benzoësäure ergab, war von Phenacetursäure nichts zu entdecken. Die Säure scheint noch leichter zersetzlich zu sein, wie die Hippursäure. Dieser Umstand liess auch die Verarbeitung grosser Mengen menschlichen Harns wenig aussichtsvoll erscheinen, und so wandte ich mich zunächst dem an aromatischen Substanzen so reichen Pferdeharn zu.

Der freundlichen Vermittlung des Hrn. Prof. Dieckerhoff an der hiesigen kgl. Thierarzneischule verdankte ich den während 48 Stunden mit besonderen Cautelen sorgfältig

gesammelten Harn eines gesunden Pferdes (Wallach), das mit 2 kg. Hafer, 2 kg. Heu, 1 kg. Weizenkleie und einer nicht genau bestimmten Quantität Häckselstroh pro Tag gefüttert war. Zur Ermittlung des Gehaltes an Hippursäure und vorläufiger Untersuchung auf Phenacetursäure wurde 1 Liter des Harns auf etwa 200 cbcm. eingedampft, mit 800 cbcm. Alkohol von 95 % wieder auf 1 Liter aufgefüllt, nach 24 Stunden filtrirt, mit Alkohol nachgewaschen, die alkoholischen Auszüge verdampft, mit Salzsäure versetzt und nach einigem Stehen mit alkoholhaltigem Aether geschüttelt. Hierbei schied sich der grösste Theil der Hippursäure als schneeweisses Pulver ab, das abfiltrirt, gewaschen, getrocknet 4,9 gr. wog und sofort den Schmelzpunkt 185° zeigte. Die noch in wässeriger Lösung befindliche Hippursäure wurde in ätherische Lösung übergeführt, diese nach dem Abdestilliren eines Theils des Aethers, anhaltend mit Natriumcarbonatlösung geschüttelt. Die alkalische Lösung eingedampft, nochmals in Alkohol aufgenommen, dieser verdunstet und der Rückstand mit Salzsäure angerührt. Die nach 24 Stunden fast ganz trockene Masse wurde mit Aether verrieben, welcher Benzoësäure aufnahm. Das Gewicht der letzteren betrug nach der Reinigung (Schmelzpunkt 121°) 0,15 gr.

Die rückständige Hippursäure wurde mit Wasser gewaschen, in heissem Wasser gelöst, die heisse trübe Lösung durch Filtriren geklärt. Aus dieser Lösung wurden drei successive auskrystallisirende Fractionen erhalten, deren Gewicht nach dem Trocknen betrug:

a) 0,382 gr.
b) 0,572 «
c) 0,892[1] «

1,846 gr.

Die Schmelzpunkte waren nach einmaligem Umkrystallisiren für a) 182, b) 186, c) schon unter 140. Das oben erwähnte Waschwasser lieferte beim Eindampfen etc. noch

[1]) Das Gewicht dieser Fraktion ist erst nach einmaligem Umkrystallisiren bestimmt.

0,493 gr. Säure. Dieselbe begann unter 140° zu schmelzen, war jedoch erst bei etwa 180° völlig geschmolzen. Zu obigen 1,846 gr. addirt, ergeben sich 2,339 gr., somit im Ganzen 7,239 gr., was mit der durch N-Bestimmung im Aetherauszug ermittelten Menge = 7,59 sehr nahe übereinstimmt.

Die Phenacetursäure war offenbar in der leicht schmelzenden Fraction zu suchen. Durch Waschen derselben mit Aether und mehrmaliges Umkrystallisiren aus Wasser konnte sie aus dieser in der That leicht erhalten werden. Im Ganzen wurden aus 1 Liter Harn 0,5 gr. erhalten, davon 0,32 gr. vom richtigen Schmelzpunkt 143°, 0,18 gr. vom Schmelzpunkt 136°. Auf dieselbe oder sehr ähnliche Weise wurde noch wiederholt Phenacetursäure aus dem Harn erhalten.

Zur Identificirung diente ausser der charakteristischen Krystallisation in Blättchen die Elementaranalyse und die Spaltung durch Salzsäure.

Eine Quantität der erhaltenen Säure wurde eine halbe Stunde lang mit rauchender Salzsäure gekocht, schliesslich verdampft, der Rückstand mit Wasser übergossen und dadurch krystallinische Blättchen abgeschieden, die bei 73° schmolzen, also unzweifelhaft Phenylessigsänre waren. Die wässerige salzsaure Lösung wurde mit feuchtem, kohlensauren Silber erwärmt, das Filtrat entsilbert und eingedampft. Das auskrystallisirende Glycocoll war leicht an seinem Habitus, dem süssen Geschmack und der Auflösung von Kupferoxyd mit blauer Farbe zu erkennen.

1. 0,2004 gr. der Säure mit chromsaurem Blei und vorgelegtem Kupfer verbrannt, gab 0,1160 H_2O und 0,4570 CO_2.
2. 0,2008 gr. gab 0,1086 H_2O und 0,4580 CO_2.
3. 0,2154 gr mit Natronkalk verbraunt, NH_3 in Salzsäure aufgefangen etc. erforderte 6,8 cbcm. Ag-Lösung, von der 1 cbcm. = 0,01 NaCl.

	Berechnet:	Gefunden:		
		1.	2.	3.
C	62.18	62,14	62,20	—
H	5,70	6,43	6,01	—
N	7,25	—	—	7,56

Die Darstellung der Phenacetursäure aus dem Pferdeharn lässt sich natürlich sehr vereinfachen, sie kommt stets

darauf hinaus, die durch Aetherausschüttelung erhaltenen Säuren fraktionirt zu krystallisiren und diejenige Fraction in Arbeit zu nehmen, deren Schmelzpunkt weit unter dem der Hippursäure liegt: meistens zeigt eine Fraction, nicht immer die letzte, dieses in sehr ausgesprochenem Grade und die Reindarstellung durch Waschen der abgepressten Säure mit Aether und Umkrystallisiren aus Wasser unter Zufügung von etwas Kohle gelingt dann überraschend leicht. Die Ueberführung der Säure aus der ätherischen Lösung in die wässerig-alkalische ist allerdings ein Umweg, hat aber doch auch ihre Vorzüge, da man dabei das Kresol grösstentheils los wird.

Zur schnellen Constatirung der Säure empfehle ich folgendes Verfahren: 1 Liter Pferdeharn, (resp. mehr, wenn der Harn nicht so concentrirt ist) wird auf 200 cbcm. verdampft, mit 800 cbcm. Alkohol aufgenommen, der Auszug verdunstet, in Wasser gelöst, mit Salzsäure stark angesäuert, die Säuren in Aetherlösung übergeführt, aus dieser in wässerig-alkalische, aus dieser nach dem Ansäuern mit Salzsäure wieder in Aetherlösung. Der beim Abdestilliren des Aethers bleibende Syrup wird möglichst von Aether befreit, dann in demselben Kolben mit 50—80 cbcm. Wasser zum Sieden erhitzt, die Lösung 24 Stunden sich selbst überlassen, dann abfiltrirt, das Filtrat auf etwa 15 cbcm. eingedampft: beim Erkalten krystallisirt in der Regel Phenacetursäure ziemlich rein aus. Oft treten schon bei einmaligem Umkrystallisiren der auf Thonplatten gut abgepressten Säure aus Wasser die charakteristischen Blättchen auf, die sehr leicht von den Nadeln der Hippursäure zu unterscheiden sind. Die Schwerlöslichkeit der trockenen Säure in Aether, der Stickstoffgehalt, der Schmelzpunkt (143^{0}) dienen zur weiteren Characterisirung.

Ueber die relative Menge der Phenacetursäure im Verhältniss zur Hippursäure lässt sich so lange nichts sagen, als man nicht eine bessere Trennungsmethode besitzt, unbedeutend ist sie jedenfalls nicht. Dass sie bisher übersehen wurde, ist aus dem üblichen Darstellungsverfahren leicht erklärlich: sie fällt beim Ansäuern des eingedampften Harns mit Salzsäure nicht aus, sondern bleibt in der

salzsauren Lösung. Man kann daher auch diese zum Ausgangspunkt nehmen, mit Aether schütteln etc. Dieses Verfahren führt bei grösseren Harnmengen schnell zum Ziel.

Mit dem Nachweis der Phenacetursäure dürfte der Beweis erbracht sein, dass die Hippursäure aus der, durch Fäulniss von Eiweiss im Darm entstehenden Hydrozimmtsäure hervorgeht, insoweit nicht die Abstammung aus präformirten aromatischen Substanzen in Betracht kommt. Dieser Punkt ist es, auf den wir noch kurz eingehen müssen.

Die 24 stündige Quantität der Hippursäure, resp. Phenacetursäure beträgt im vorliegenden Falle rund 15 gr. Nach unseren Versuchen sind aus 100 gr. Eiweiss durch Fäulnisszersetzung und Verfütterung der entstandenen aromatischen Säuren nicht mehr wie höchstens 2 gr. Hippursäure[1]) zu erhalten. Somit müssten zur Bildung von 15 gr. Hippursäure 1750 gr. Eiweiss im Darm durch Fäulniss zerfallen und wenn wir selbst annehmen, dass die Quantität der gebildeten aromatischen Säuren doppelt so gross sein kann, immer noch 375 gr. Nun betrug die Quantität des zersetzten Eiweiss nach Massgabe des ausgeschiedenen Stickstoffs (65,34 gr.), etwa 400 gr. pro die. Auch wenn wir annehmen, dass nicht aller Stickstoff des im Darm zersetzten Eiweiss im Harn erscheint, ist es unmöglich, die ganze Quantität der Hippursäure vom zersetzten Eiweiss abzuleiten. Eine solche Annahme würde wenigstens unsere Vorstellungen über die Ernährung bei den Pflanzenfressern völlig auf den Kopf stellen und wir werden gewiss weit mehr Grund haben, zu vermuthen, dass in den Futterstoffen noch unbekannte, der Benzoësäure nahestehende Verbindungen in beträchtlicher Menge[2]) präformirt vorhanden sind, ehe wir uns zu dieser Annahme entschliessen.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse für das Phenol.

---

[1]) Resp. Phenacetursäure, als Hippursäure berechnet.

[2]) Was bisher von solchen im Harn nachgewiesen ist, kommt der Menge nach kaum in Betracht. — Meissner und Shepard sehen bekanntlich die Cuticularsubstanz als Quelle der Hippursäure an.

Tappeiner[1]) findet es schon bedenklich, eine Zersetzung von 10% des Eiweiss im Darmkanal unter Bildung von Phenol beim Pferd anzunehmen — so gross müsste seiner Rechnung nach der Umfang der Zersetzung sein. Diese Schätzung von Tappeiner wäre aber sicher viel zu niedrig. Tappeiner geht von der von J. Munk und Tereg[2]) ermittelten durchschnitttlichen Phenolausscheidung von 3 gr. pro die aus. Unter der Voraussetzung, dass 100 gr. Eiweiss 5 gr. Phenol liefern können, würden zur Bildung von 3 gr. Phenol 60 gr. Eiweiss nöthig sein; weiterhin nimmt Tappeiner 600 gr. resorbirtes Eiweiss pro die an, somit 10% Verlust durch Fäulniss.

Die Unterlagen dieser Rechnung sind sehr anfechtbar. Zunächst erscheint, wie zahlreiche übereinstimmende Versuche ergeben haben, (Schaffer, Tauber, Auerbach, J. Munk) bei Verabreichung von Phenol nur etwa die Hälfte desselben im Harn wieder. Es liegt kein Grund vor, anzunehmen, dass das im Darm entstehende und langsam resorbirte «Phenol», wenn es auch zum grossen Theil Kresol ist, sich wesentlich anders verhält. Eine Ausscheidung von 3 gr. Phenol, resp. Kresol, berechtigt uns, auf eine Bildung von 6 gr. zu schliessen. Zweitens ist die Annahme, dass 100 gr. Eiweiss 5 gr. Phenol bilden könnten, viel zu hoch gegriffen. Wir können nach unseren Versuchen[3]) höchstens 1,5% zugeben, in den Versuchen von Brieger[4]) ist die Menge noch viel kleiner. Zur Lieferung des Phenols wären somit mindestens 400 gr. Eiweiss erforderlich. Mit anderen Worten: Da die Stickstoffausscheidung in den Versuchen von J. Munk und Tereg bei obiger Phenolausscheidung etwa 60 gr. pro die betrug, so müsste sämmtliches Eiweiss im Darmkanal durch Fäulniss zerfallen, resp. fast sämmtliches, wenn vielleicht ein Theil des zerfallenden Eiweiss seinen Stickstoff

---

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. XX, S. 230.

[2]) Archiv für Anatomie und Physiologie. Physiolog. Abtheilg. Suppl. für 1880.

[3]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XIII, S. 189.

[4]) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 134.

nicht in den Harn sendet. Nehmen wir aber auch nur 3 gr. gebildetes Phenol an, so gelangen wir immer noch zu 200 gr. durch Fäulniss zersetzten Eiweiss, was offenbar nicht annehmbar ist. Diese Consequenzen sind also wohl geeignet, Zweifel an der Richtigkeit der nach Baumann's[1]) Vorgang allgemein und auch von mir bisher acceptirten Anschauung wachzurufen, dass das Phenol auch beim Pflanzenfresser ausschliesslich aus dem Eiweiss der Nahrung durch Fäulniss hervorgeht. Mit dieser Annahme würden unsere bisherigen Anschauungen über die Resorption des Eiweiss und den Ernährungsvorgang unvereinbar sein.

Auch J. Munk ist bereits (l. cit.) durch die Beobachtung, dass die Phenolausscheidung bei Fütterung mit Wiesenheu besonders gross war und herunterging, als die Menge desselben verringert wurde, zu der Vermuthung geführt, dass mit dem Wiesenheu vielleicht aromatische Substanzen eingeführt sein möchten, aus denen sich Phenol leicht und in grösserer Menge abspaltet.

Endlich widerspricht auch die relativ geringe Ausscheidung von Indican der Annahme einer so umfangreichen Eiweisszersetzung. Wenn wir uns auch der Ansicht von Hoppe-Seyler anschliessen, dass die bisherigen Methoden der Indicanbestimmung zu niedrige Werthe geben, so wird doch die Indigoausscheidung mit 0,5 gr. pro die beim Pferd nicht zu niedrig angenommen sein. Da das Indol nach den Versuchen von Baumann[2]) mindestens dem grössten Theile nach als Indican ausgeschieden wird, so werden wir also auch nicht mehr, wie höchstens 0,5 gr. Indol als 24stündige im Darm gebildete Menge annehmen können. Diese Quantität kann wenigstens, wie unsere früheren Versuche zeigen, aus 50 gr. Eiweiss entstehen. Lassen wir das Phenol ausschliesslich aus dem Eiweiss hervorgehen, so erhebt sich die Frage, was denn aus den entsprechenden grossen Quantitäten Indol wird. — Ich verkenne nicht, dass die Unterlagen

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 322.

2) Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 67.

dieser Berechnungen etwas willkürlich sind und dass zu einer fruchtbaren Discussion dieser Frage eine wesentliche Unterlage bisher fehlt, nämlich quantitativ durchgeführte Fäulnissversuche mit pflanzlichen Eiweisskörpern, jedenfalls aber kann man aus der Indicanausscheidung kein Argument für die Ableitung des Phenols aus Eiweissfäulniss entnehmen.

Physiologisch-chemische Literaturübersicht

Zusammengestellt

von

Dr. E. HERTER.

Archiv für Anatomie und Physiologie.

Physiologische Abtheilung.

1882.

Brandt, H. Ueber die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren, S. 125.

Dönhoff, E. Einfluss der Wärme auf den Eintritt von Wasser in Gewebe, .und auf den Austritt von Säften aus Geweben, S. 162.

— Das Athmungscentrum der Honigbiene, S. 162.

— Ein Wachsspaltungsferment im Darm der Larve der Wachsmotte, S. 163.

Nicolaides, Regas. Ueber die Anwendung der Stromuhr unter Beihülfe des Peptons, S. 164.

Bernstein, J. Ueber die Einwirkung der Kohlensäure des Blutes auf das Athemcentrum, S. 313.

Winternitz, W. Entgegnung auf Zuntz's Kritik seiner calorimetrischen Methode, S. 423.

Zuntz. Bemerkungen dazu, S 568.

Zuntz, N. Ueber die Bedeutung der Amidsubstanzen für die thierische Ernährung, S. 424.

Salomon, G. Beiträge zur Chemie des Harns, S. 426.

Baginsky, A. Zur Anatomie des Darmkanals des menschlichen Kindes, S. 428.

Martius, Friedrich. Die Erschöpfung und Ernährung des Froschherzens, S. 543.

Senator. Zur Theorie der Harnabsonderung, S. 99.

Hiess. Ueber die Wirkung des Piperidins und des Coniins, S. 111.

Zuntz. Ueber den Stoffwechsel fiebernder Thiere, S. 115.

Schöler. Ueber das Fluorescein in seiner Bedeutung für Erforschung des Flüssigkeitswechsels im Auge, S. 120.

Zuntz, N. Ueber die Bedeutung der Hautfunction für die Körpertemperatur und Wärmeregulation, S. 122.

von Ott. Ueber lebenerhaltende Transfusionen mit Pferdeserum, S. 123.

Falk, F. Ueber die Einwirkung von Verdauungssäften auf Fermente, S. 187.

von Ott. Umwandlung der Eiweisskörper der Nahrung in Serumalbumin, S. 420.

Archiv für experimentelle Pathologie.

Bd. 12—14.

Speck. Untersuchungen über den Einfluss des Lichtes auf den Stoffwechsel, Bd. **12**, S. 1.

Bunge, Benvenuto. Ueber die Wirkungen des Cyans auf den thierischen Organismus, S. 41.

Coranda. Ueber das Verhalten des Ammoniaks im menschlichen Organismus, S. 76.

Valentin, G. Eudiometrisch-toxikologische Untersuchungen. 10. Abthlg. Strychnin, S. 97; Jodmethylstrychnin und schwefelsaures Methylstrychnin, S. 420.

Schreiber, Julius. Die Wirkung des veränderten Luftdrucks in den Lungen auf den Blutkreislauf des Menschen, S. 117.

Hallervorden, E. Ueber Ausscheidung des Ammoniak im Urin bei pathologischen Zuständen, S. 237.

Eckhard, F. Ueber den Einfluss des Chloralhydrats auf gewisse experimentell zu erzeugende Diabetesformen, S. 276.

Edelberg, Max. Ueber die Wirkungen des Fibrinfermentes im Organismus, S. 283.

Harnack, Erich. Ueber einige das Physostygmin betreffenden pharmakologischen und chemischen Fragen, S. 334.

Harnack, Erich und Meyer, Hans. Untersuchungen über die Wirkungen der Jaborandi-Alkaloide nebst Bemerkungen über die Gruppe des Nicotins, S. 366.

Gies, Th. Zur Kenntniss der Wirkung der Carbolsäure auf den thierischen Organismus, S. 401.

Soloweitschyk, Isaac. Ueber die Wirkungen der Antimonverbindungen auf den thierischen Organismus, S. 438.

Strahl, Hans. Zur Lehre von der wachsartigen Degeneration der quergestreiften Muskeln, Bd. **13**, S. 14.

Podwyssotzky. Pharmakologische Studien über Podophyllum peltatum, S. 29.

White. Ueber die Wirkungen des Zinns auf den thierischen Organismus, S. 53.

Meyer, Hans u. Williams, Francis. Ueber acute Eisenwirkung, S. 70.

Binz, C. Toxikologisches über Jodpräparate, S. 113.

— Ueber einige neue Wirkungen des Natriumnitrits, S. 134.

— Narkotische Wirkung von Jod, Brom und Chlor, S. 139.

— Aphorismen und Versuche über schlafmachende Stoffe, S. 157.

Jalon de la Croix. Das Verhalten der Bacterien des Fleischwassers gegen einige Antiseptica, S. 175.

Schulz. Weitere Beiträge zur Theorie der Arsenwirkung, S 256.

Valentin. Eudiometrisch-toxikologische Untersuchungen. XII. Pilocarpin, S. 287.

Zur Kenntniss des Pferdeharns.

Von

E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 11. Dezember 1884.)

Die sich mir darbietende Gelegenheit, den während 48 Stunden mit besonderen Cautelen gesammelten Harn eines gesunden Pferdes (Wallach) untersuchen zu können, habe ich zur Ausführung einiger bisher nicht häufig oder überhaupt noch nicht angestellten quantitativen Bestimmungen benutzt[1]). Das Pferd war mit 2 kg. Hafer, 2 kg. Heu, 1 kg. Weizenkleie und einer nicht genau bestimmten Quantität Häckselstroh pro Tag gefüttert.

Der Harn war von lichtbräunlicher Farbe, nach dem Abcoliren von einer zähen, grau-weissen Masse nur wenig trüb. Beim Stehen bildete sich ein ziemlich hohes, aber sehr lockeres Sediment, in welchem die mikroskopische Untersuchung nur Epithelzellen und Krystalle von oxalsaurem Kalk nachwies. Ausser diesen Bestandtheilen fanden sich noch kurze, breite Stäbchen, die sich leicht und ohne merkliche CO_2-Entwickelung in Salzsäure lösten und wohl gleichfalls aus Calciumoxalat bestanden.

Die Reaktion des Harns war neutral, sie hielt sich so wochenlang beim Aufbewahren des Harns in kühler Temperatur. Die Harnmenge betrug für 48 Stunden 4110 cbcm., das specifische Gewicht 1046.

---

[1]) Vgl. J. Munk und Tereg: Archiv für Thierheilkunde, Bd. VI, S. 278, und Archiv für Anatomie und Physiologie 1880, Supplembd.

Das Verhalten des durch Papier filtrirten Harns zu Reagentien wich wenig von dem des menschlichen Harns ab. Die Hauptunterschiede waren etwa folgende:

1. Nach dem Ansäuern mit Essigsäure entstand bei Zusatz von Uranlösung erst nach einiger Zeit eine kaum wahrnehmbare Trübung, der Harn war also fast frei von Phosphorsäure.
2. Ammoniakzusatz bewirkte kaum eine Trübung, im Filtrat war keine Phosphorsäure, dagegen reichlich Calcium nachweisbar. Während im Menschenharn stets weit mehr Phosphorsäure vorhanden ist, als dem Calcium entspricht, ist hier umgekehrt weit mehr Calcium vorhanden. Das Calcium ist in diesem Harn an Schwefelsäure gebunden.
3. Bei Zusatz von ammoniakalischer Silberlösung und gelindem Erwärmen färbt sich der Harn braun, unter Ausscheidung von metallischem Silber in Pulverform, setzt man vor dem Erhitzen Natronlauge hinzu und erhitzt dann zum Sieden, so entsteht ein zusammenhängender Silberspiegel.

Die ausgeführten quantitativen Bestimmungen sind folgende:

1. Trockenrückstand.

5 cbcm. auf Sand im Vacuum neben Schwefelsäure eingetrocknet, ergaben 0,604 gr. Rückstand = 1,208%.

2. Aschengehalt.

10 cbcm. eingedampft und langsam verascht, ergaben:

a) Unlösliche Salze .	0,0442
b) Lösliche Salze . .	0,1980
	0,2422

Die unlöslichen Salze bestanden aus Calciumsulfat, neben sehr wenig Calciumphosphat, die löslichen zum grossen Theil gleichfalls aus Calciumsulfat und ausserdem aus Chloriden. Die Unterscheidung zwischen löslichen und unlöslichen Salzen ist bekanntlich immer etwas willkürlich und ganz besonders im vorliegenden Falle.

3. Gesammtstickstoff.

5 cbcm. auf Sand getrocknet von 1. mit Natronkalk in einer langen

und weiten Röhre verbrannt, NH_3 in Salzsäure aufgefangen, abgedampft, mit Silberlösung titrirt, ergab 0,1546 N = 3,092%.

4. Präformirtes Ammonsalz.

20 cbcm. im Schlösing'schen Apparat mit Kalkmilch, zum Auffangen des Ammoniaks verdünnte Salzsäure im Schälchen. Dieselbe nach 5 Tagen verdampft, Rückstand in H_2O gelöst, mit Silberlösung titrirt, von der 1 cbcm. = 0,001 NaCl; gebraucht 12,1 cbcm. = 0,01758% NH_3 = 0,0144% N als NH_3.

5. In Form von Hippursäure, resp. Phenacetursäure vorhandener Stickstoff.

50 cbcm. Harn eingedampft, mit Alkohol erschöpft, die Hippursäure in alkoholhaltigen Aether übergeführt, im Verdampfungsrückstande desselben N bestimmt. N-Gehalt 0,0297% = 0,759% Hippursäure.

6. Harnsäure.

200 cbcm. nach dem Silberverfahren untersucht, ergeben nur einige Milligramme von Harnsäure, die durch mikroskopische Untersuchung und Murexidreaktion festgestellt ist.

7. Phenol, resp. Kresol.

100 cbcm. Harn, 150 cbcm. Wasser, 50 cbcm. destillirt. bis das Destillat keine Bromreaktion mehr gab, ganzes Destillat mit Bromwasser gefällt, nach 5 Tagen filtrirt. Erhalten 0,419 gr. Tribromphenol = 0,1187% Phenol, resp. 0,1364% Kresol.

8. Gesammtschwefelsäure.

Filtrat + Waschwasser von 7. eingeengt und mit $BaCl_2$ gefällt. Erhalten 1,376 $BaSO_4$ = 0,4724% SO_3 = 0,1892% S.

9. Neutraler Schwefel.

Filtrat + Waschwasser von 8. in zwei Hälften getheilt. Die eine Hälfte unter starkem Zusatz von Na_2CO_3 eingedampft, langsam mit KNO_3 geschmolzen, Schmelze in Wasser gelöst, vorsichtig mit Salzsäure versetzt, wiederholt damit abgedampft. Erhalten 0,225 $BaSO_4 \times 2$ = 0,450 = 0,0617 S.

10. Chloride.

10 cbcm. mit Na_2CO_3 und KNO_3 geschmolzen. Gebraucht 13,2 Ag-Lösung = 1,32% NaCl.

11. Calcium.

20 cbcm. mit Essigsäure angesäuert, mit Ammoniumoxalat gefällt. Erhalten 0,0556 CaO = 0,278%.

12. Phosphorsäure.

In 50 cbcm. nach dem Schmelzen mit KNO_3 und Na_2CO_3 durch Fällung mit Uranlösung. Erhalten 0,0536 phosphorsaures Uran.

[illegible] durch den Harn in Grammen.

	Für 100 cbcm. Harn.	24stündige Menge.
[illegible]	12,08	248,244
[illegible]	87,92	1806,756
[illegible]	9,638	198,061
[illegible]	2,442	50,183
[illegible]	3,092	65,34
[illegible]	0,0176	0,357
[illegible]	Spuren.	—
[illegible]	0,759	15,597
[illegible]	0,119	2,445
[illegible]	0,472	10,299 } 13,464
[illegible]	0,154	3,165
[illegible]	0,0107	0,2199
[illegible]	0,278	5,713
[illegible]	1,32	27,126
[illegible]	0,1892	4,068 } 5,336
[illegible]	0,0617	1,268

[illegible] Verhältnisszahlen:

[illegible] N = 1 : 214.

[illegible] nicht ganz wie im Kaninchen-[illegible] viel geringer, als im [illegible] Nahrung etwa 1 : 24). Ob [illegible] Ammoniaksalze zu beziehen, mag [illegible] werden.

[illegible] = 1 : 3,2.

[illegible] am nächsten der für [illegible] Im Mittel von [illegible] erheblich höher wie [illegible] Verhältniss etwa 1 : 6 an-[illegible] geringer wie im Allge-[illegible]

[illegible] Gesammtstickstoff = 1 : 12,3.

[illegible] berechnet.

[illegible] zusammen.

[illegible] 249.

Im menschlichen Harne fand B. Schulze[1]) dieses Verhältniss = 1 : 15,6, resp. 15,8.

4. Endlich sei noch auf den ausserordentlich hohen Gehalt des Harns an Calcium hingewiesen. Das Verhältniss zwischen Kalk und Stickstoff beträgt etwa 1 : 11,4, während man es im menschlichen Harn auf 1 : 40 veranschlagen kann. Der Kalk ist nur zum kleinsten Theil an Phosphorsäure gebunden, da als Gesammtphosphorsäure pro Tag nur 0,220 gr. gefunden wurde und es dabei noch zweifelhaft bleibt, ob nicht ein relativ ansehnlicher Theil dieser Quantität erst aus Glycerinphosphorsäure beim Schmelzen mit Salpeter entstanden ist. Die Hauptmenge des Kalkes muss man als an Schwefelsäure gebunden ansehen.

---

1) Zeitschrift für Biologie, Bd. XIX, S. 308.

Ueber die Bestimmung des Kuh-Caseïns durch Fällung mit Schwefelsäure.

Von

Joh. Frenzel und Th. Weyl.

(Aus dem Privat-Laboratorium von Th. Weyl.)
(Der Redaktion zugegangen am 16. Dezember 1884.)

Im Verlaufe einer Untersuchung von wesentlich technischem Interesse handelte es sich um Auffindung einer Methode zur quantitativen Bestimmung des Caseïns der Kuhmilch, welche bei möglichst schneller und leichter Ausführbarkeit genügend genaue Resultate garantirte.

Nachdem das Princip derselben von dem einen (W.) von uns beiden gefunden war, haben wir die weitere Ausführung des Verfahrens gemeinsam unternommen.

Bekanntlich bestimmt man das Caseïn der Kuhmilch nach Hoppe-Seyler in der auf das 20fache verdünnten Milch durch Zusatz verdünnter Essigsäure und Durchleiten eines Kohlensäurestromes. Hierbei missglückt die Abscheidung sehr leicht, wenn man einen kleinen Ueberschuss von Essigsäure zugesetzt hat. Aus diesem Grunde schreibt Hoppe-Seyler vor, von derselben Milch drei Portionen anzusetzen und von diesen die bestgelungenste zu benutzen.

Nach unserem Verfahren scheidet man das Caseïn aus der nur auf das 4fache verdünnten Milch durch verdünnte Schwefelsäure ab. Man erhält nach kurzer Zeit — in der kalten Jahreszeit genügen wenige Stunden — eine leicht und klar filtrirende Flüssigkeit über einem feinflockigen Niederschlage, der sich sehr gut auswaschen lässt.

Auf Grund einer grossen Reihe von Versuchen mit Säuren verschiedener Concentration, blieben wir zuletzt bei einer Schwefelsäure von 1‰, d. h. bei einer Säure, welche 1 cbcm. reiner concentrirter Schwefelsäure von 1,84 specif. Gewicht auf 1 Liter destillirtes Wasser enthält, stehen. Diese Säure wurde bei allen im Folgenden mitgetheilten Analysen benutzt.

Man verfährt im Einzelnen folgendermassen:

In einem Becherglase von 150 cbcm. Inhalt befinden sich 60 cbcm. destillirtes Wasser. Zu diesen lässt man 20 cbcm. einer gut umgeschüttelten Milch, die mit der Pipette[1]) abgemessen sind, fliessen. Man rührt um und lässt unter fortwährendem Rühren zur verdünnten Milch aus einer Bürette 30 cbcm. Schwefelsäure von 1‰ (s. o.) fliesen. Der Rührstab wird abgespritzt und das Glas für einige Stunden bedeckt in einen kalten Raum gestellt[2]).

Die über dem Niederschlage stehende Lösung wird ohne diesen aufzurühren, durch ein aschefreies gewogenes Filter gegossen. Zuletzt bringt man den Niederschlag auf dasselbe und wäscht 2mal mit Wasser nach. Nachdem das Filter abgetropft ist, wird 2mal mit Alkohol ausgewaschen. Zunächst mit Spiritus von etwa 90%, dann mit absolutem Alkohol. Zuletzt wäscht man das Filter mit Aether, und zwar bei abgesahnter Milch 10mal, bei voller Milch 15mal.

Das bei 110° getrocknete Filter wird gewogen und event. unter Zusatz von frisch ausgeglühtem Eisenoxyd «verascht»[3]).

---

[1]) Mit den gewöhnlichen Büretten lässt sich Milch kaum genau genug abmessen. Höchstens mit solchen von sehr geringem Querschnitt.

[2]) Besondere Versuche zeigten, dass das Endresultat durch längeres Stehen nicht vergrössert wird.

[3]) Das beim Veraschen des Caseïns mit Eisenoxyd gefundene phosphorsaure Eisenoxyd als «Asche» im gewöhnlichen Sinne zu bezeichnen, halte ich für ungerechtfertigt. Die Phosphorsäure gehört zum Caseïnmolekül. Nur diejenigen unorganischen Bestandtheile des Caseins, welche nicht Phosphorsäure sind, dürfen als Asche betrachtet werden. Vergl. die ausgezeichneten Untersuchungen von O. Hammarsten: Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, S. 227 (1883).

Zunächst verglichen wir unser Verfahren mit Hoppe-Seyler's vorzüglicher Methode der Caseïn-Bestimmung in essigsaurer Lösung. Die benutzte Essigsäure war der angewandten Schwefelsäure äquivalent.

Tabelle I.

Milch.	Abgesahnte.	△ in mgr.	Volle	△ in mgr.	Volle.	△ in mgr.	Volle.	△ in mgr.	Volle.	△ in mgr.	Asche.
20 M + 60 H^2O + 30 SO^3	0,4768[1])	— 6	0,4994	— 19	0,7685	— 21	0,595	— 17	0,6488	— 7	0,005[1])
20 M + 400 H^2O + 36,6 Essigsäure + CO^2 (Hoppe-Seyler's Methode.)	0,482[2])	—	0,518	—	0,7895	—	0,6125	—	0,6564	—	0,0065[2])

1) und 2) vergl. Asche.

Wenn wir also Hoppe-Seyler's Methode als die beste dem Vergleiche zu Grunde legen, so werden nach unserem Verfahren stets um ein Geringes zu kleine Werthe erhalten. Der gefundene Fehler beträgt aus allen fünf Analysen berechnet:

$$\frac{6 + 19 + 21 + 17 + 7}{5} = \frac{70}{5} = 14 \text{ mgr.}$$

Dies entspricht also $^1/_{40}$—$^1/_{50}$ der überhaupt gewogenen Substanzmenge. Also pro Liter Milch ca. 0,7 Caseïn; oder, da Caseïn nach Hammarsten (a. a. O.) 15,65% Stickstoff enthält, 0,109 gr. N.

Darnach ist die angegebene Modification der Caseïnbestimmung von durchaus genügender Genauigkeit[1]).

Wir haben dann ferner geprüft, ob bei 20facher Verdünnung der Milch, wie sie Hoppe-Seyler vorschreibt, aus dem gleichen Quantum der gleichen Milch durch Schwefelsäure mehr Caseïn gefällt wird, als bei nur 4facher Verdünnung.

Tabelle II.

Milch.	Volle.	Δ in mgr.	Volle.	Δ in mgr.	Volle.	Δ in mgr.	Asche.
20 M + 60 H^2O + 30 SO^3	0,6465	+ 12	0,7128	+ 9	0,6488	+ 10	—
20 M + 400 H^2O + 30 SO^3	0,6345	—	0,7037	—	0,6385	—	—

Die Differenzen sprechen zu Gunsten der weniger stark verdünnten Milch.

Den Einfluss eines Ueberschusses an Schwefelsäure von 1⁰/₀₀ illustriren die folgenden Analysen.

1) Für unsere Bestimmungsmethode des Caseins, welche technischen Zwecken dient, kann die Menge des im Filtrat gelösten Caseins durchaus vernachlässigt werden.

Tabelle III.

Milch.	Ab-gesahnte.	Δ in mgr.	Volle.	Δ in mgr.	Volle.	Δ in mgr.	Asche.
20 M + 60 H^2O + 30 SO^3	0,526 [1])	+ 25	0,682	+ 19	0,6877	+ 39	0,0044[1])
20 M + 60 H^2O + 45 SO^3	0,5014 [2])	—	0,6635	—	0,648	—	0,0033[2])

Hiernach wird wegen der Löslichkeit des Caseïns in einem Ueberschusse des Fällungsmittels weniger Caseïn gefunden bei Anwendung eines Ueberschusses der Schwefelsäure von 1°/oo.

Die Proben, welche 45 cbcm. Schwefelsäure enthielten, setzten sich nicht klar ab und filtrirten äusserst langsam.

Dass ein Ueberschuss an Essigsäure im gleichen Sinne wirkt, geht aus den folgenden Analysen hervor.

Die Essigsäure war der Schwefelsäure von 1°/oo äquivalent.

Tabelle IV.

Milch.	Ab-gesahnte.	Δ in mgr.	Volle.	Δ in mgr.	Volle.	Δ in mgr.	Asche.
20 M + 400 H^2O + 36,6 Essigs. + CO^2	0,5533	+ 5	0,6564	+ 10	0,6125	+ 20	—
20 M + 400 H^2O + 55,5 Essigs. + CO^2	0,5486	—	0,6462	—	0,592	—	—

Die 36,6 cbcm. Essigsäure entsprachen 15 cbcm. Schwefelsäure von 1°/oo
Die 55,5 cbcm. Essigsäure entsprachen 45 cbcm Schwefelsäure von 1°/oo

Es geht aber ferner aus Tabelle III und IV hervor, dass von äquivalenten Mengen verdünnter Essig- und Schwefelsäure letztere in höherem Masse lösend auf Caseïn einwirkt als erstere.

---

[1]) und [2]) vergl. unter Asche.

Endlich haben uns Versuche gezeigt, dass eingeleitete Kohlensäure die Caseïnmenge in keiner Weise beeinflusst.

Durch Kohlensäure wird vielmehr nur die Form der Ausscheidung modificirt. Die Caseïnflocken sind bei Anwendung von Kohlensäure feinflockiger als ohne dieselbe.

Das durch verdünnte Schwefelsäure (1‰) frisch gefällte, dann in wenig Ammoniak gelöste Caseïn verhielt sich, nachdem der angegebene Reinigungsprozess noch 2 mal wiederholt war, gegen die üblichen Reagentien wie das durch verdünnte Essigsäure gefällte.

Ammoniak löste beide Präparate auf. Säuren fällten aus der Lösung Caseïn, das durch einen Ueberschuss des Fällungsmittels gelöst wurde.

Ebenso verhielt sich Sodalösung, Baryt- und Kalkwasser.

In Salzsäure von 1‰ lösten sich beide Präparate bei 40° zu einer etwas trüben Flüssigkeit, welche die bekannten Eiweissreaktionen zeigte.

In der nachfolgenden Tabelle V haben wir die erhaltenen Caseïnwerthe auf Procente der frischen Milch berechnet.

Tabelle V (Caseïn in Procenten der frischen Milch).

Nr.	Milch.	Abgesahnte.	Volle.	Volle.	Volle.	Volle.	Vergl. Tabelle Nr.
Ia	20 M + 60 H^2O + 30 SO^3	2,38	2,497	3,843	2,975	3,24	I.
Ib	20 M + 400 H^2O + 36,6 Essigs. + CO^2	2,41	2,590	3,948	3,06	3,23	
IIa	20 M + 60 H^2O + 30 SO^3	—	3,23	3,56	3,24	—	II
IIb	20 M + 400 H^2O + 30 SO^3	—	3,17	3,52	3,19	—	
IIIa	20 M + 60 H^2O + 30 SO^3	2,63	3,41	3,44	—	—	III.
IIIb	20 M + 60 H^2O + 45 SO^3	2,51	3,32	3,24	—	—	
IVa	20 M + 400 H^2O + 36,6 Essigs. + CO^2	2,77	3,28	3,06	—	—	IV.
IVb	20 M + 400 H^2O + 55,5 Essigs. + CO^2	2,74	3,23	2,96	—	—	

Die mitgetheilten Analysen dürften zu folgenden Schlüssen berechtigen:

1. **Ohne die Genauigkeit der Caseïnbestimmung wesentlich zu beeinträchtigen, genügt es, die Milch auf das 4fache zu verdünnen.**
2. Die Anwendung der Kohlensäure ist entbehrlich.
3. Die hier mitgetheilte Methode der Caseïnbestimmung ist schneller als die bisher geübte ausführbar, weil sie eine Operation weniger erfordert (Einleiten von Kohlensäure), und weil die zu filtrirende Flüssigkeitsmenge bedeutend geringer ist.

Berlin, im Dezember 1884.

(Privat-Laboratorium.)

Ein Nachtrag zu den Untersuchungen über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen.

Von

E. Schulze.

(Der Redaktion zugegangen am 28. Dezember 1884.)

In der in der Ueberschrift genannten Abhandlung, welche in dieser Zeitschrift vor Kurzem zur Publikation gelangte[1], wurde mitgetheilt, dass bei der Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure optisch active, bei der Zersetzung des gleichen Eiweissstoffs durch Barytwasser bei 150 bis 160° optisch unwirksame Amidosäuren entstehen. Auf meine Bitte hatte Herr Prof. P. Groth die Güte, durch Herrn Dr. Vater die Salzsäureverbindung der optisch inaktiven Glutaminsäure krystallographisch untersuchen zu lassen. Es ergab sich, dass dieselbe in Bezug auf die Krystallform mit der Salzsäureverbindung der gewöhnlichen (optisch activen) Glutaminsäure übereinstimmt. Nach der Mittheilung des Herrn Prof. Groth zeigte die Substanz die Form der salzsauren Glutaminsäure, welche F. Becke in der Zeitschrift für Krystallographie, Bd. 5, S. 366 in Fig. 3 dargestellt und beschrieben hat, mit den Flächen b (010), m (110), d (011) zuweilen untergeordnet n (210).

In unserer oben citirten Abhandlung wurde mitgetheilt, dass in Bezug auf den Grad der Löslichkeit in Wasser die

---

[1] Bd. IX. S. 63—126. Die Arbeit wurde unter Mitwirkung von J. Barbieri und E. Bosshard ausgeführt.

optisch aktiven Amidosäuren mit den inaktiven Präparaten nicht übereinstimmten. So bedurfte z. B. das optisch aktive Leucin ungefähr 40 Theile Wasser von Zimmertemperatur zur Lösung, das optisch inaktive Leucin dagegen ungefähr 100 Theile. Es ergaben sich jedoch auch Differenzen für die Löslichkeit der verschiedenen Präparate der gleichen Substanz; so schwankte z. B. beim optisch aktiven Leucin die Löslichkeit von 1:37 bis 1:41[1]), beim optisch inaktiven Leucin von 1:97 bis 1:106,5. Wir haben diese Differenzen durch die Annahme erklärt, dass geringe, durch die Elementar-Analyse nicht mehr nachweisbare Verunreinigungen, welche unseren Präparaten anhafteten[2]), die Löslichkeit derselben stark beeinflussten. Demgemäss mussten wir es auch für wahrscheinlich erklären, dass durch Wiederholung des Umkrystallisirens die Löslichkeit der Präparate noch verringert werden könne.

Wir haben später für zwei von jenen Präparaten geprüft, in wie weit solches der Fall war, nämlich für das optisch aktive Leucin und für die optisch inaktive Glutaminsäure. Das erstere wurde noch 3mal aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt, unter Beseitigung der sämmtlichen Mutterlaugen. Für das so erhaltene, aus schönen atlasglänzenden Krystallblättern bestehende Präparat ergab sich eine Löslichkeit von 1:46 bei 18°[3]). Wir lösten das Präparat darauf in wenig heissem Wasser und fügten sodann Weingeist zu; das so zur Ausscheidung gebrachte Leucin wurde nach dem

---

[1]) D. h. 1 Theil Suhstanz bedurfte zur Lösung 37—41 Theile Wasser. Der Kürze halber theile ich die Resultate der Löslichkeitsbestimmungen in obiger Form mit

[2]) Es sei hervorgehoben, dass alle zur Verwendung gekommenen Präparate schön krystallisirt und völlig ungefärbt waren.

[3]) Die Krystalle wurden mit einer zur völligen Lösung nicht genügenden Menge Wassers zuerst schwach erwärmt, dann bei gewöhnlicher Temperatur unter wiederholtem Umschütteln ca. zwei Tage lang in Berührung gelassen. 7,726 gr. der so erhaltenen Lösung gaben beim Eindampfen in einem Platinschälchen 0,164 gr. Rückstand (getrocknet bei 100°). In entsprechender Weise sind die übrigen Löslichkeits-Bestimmungen ausgeführt worden, insoweit nicht oben im Text etwas Anderes angegeben ist.

Abfiltriren und Trocknen wieder zu einer Bestimmung verwendet; aus derselben ergab sich eine Löslichkeit von 1:45 bei 17°.

Auch nach diesen Bestimmungen bleibt in Bezug auf den Grad der Löslichkeit in Wasser eine grosse Verschiedenheit zwischen dem optisch aktiven und dem optisch unwirksamen Leucin. Das für das erstere erhaltene Resultat differirt nur wenig von der von M. Nencki[1]) für ein aus Ochsenpancreas dargestelltes Leucinpräparat gefundenen Löslichkeit (1:43,6 bei 14,5°). Fast die gleiche Löslichkeit zeigte ferner das durch Zersetzung des Kürbisglobulins mittels Salzsäure von uns dargestellte optisch aktive Leucin, nachdem es wiederholt aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt worden war[2]). Aus einer Bestimmung, in welcher eine Portion desselben mit einer zur völligen Lösung nicht genügenden Menge Wassers zuerst schwach erwärmt, dann bei gewöhnlicher Temperatur 24 Stunden unter häufigem Umschütteln in Berührung gelassen wurde, ergab sich eine Löslichkeit von 1:44,7 bei 19½°; als wir bei Ausführung

---

[1]) Fehling's Handwörterbuch der Chemie, Bd. 4, S. 75, sowie Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 15, S. 390. In unserer früheren Abhandlung haben wir auf S 101, Anmerk. 2, angegeben, dass auch Hüfner ein Präparat von natürlichem Leucin, welches mehr als 40 Th. kalten Wassers zur Lösung bedurfte, unter Händen gehabt habe; doch ist diese unsere Angabe wohl nicht ganz korrekt. In seiner Abhandlung (Journal für praktische Chemie N. F, Bd. 1, S. 6) theilt Hüfner mit, dass natürliches Leucin und ein aus Monobromcapronsäure synthetisch dargestelltes Leucin bei 20° die gleiche Löslichkeit zeigten und gibt für das letztere später (auf S 11) an, dass es 48,8 Th. Wasser von 12° zur Lösung bedurfte; aus den an der ersten Stelle für den Procentgehalt der betreffenden Lösungen angegebenen Zahlen berechnet sich aber für eine Temperalur von 20° eine Löslichkeit von 1 : 25 bis 1:26.

[2]) Von den in unserer früheren Abhandlung auf S. 88—91 beschriebenen drei Leucinpräparaten wurde das zuerst genannte (welches als das reinste angesehen werden musste) für die obigen Versuche verwendet; dasselbe wurde noch viermal aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt. unter Beseitigung aller Mutterlaugen. Nach 1maligem Umkrystallisiren zeigte es eine Löslichkeit von 1 : 41 bei 19°; durch das darauffolgende 3malige Umkrystallisiren ist also seine Löslichkeit nicht mehr viel verringert worden.

einer zweiten Bestimmung die Krystalle nur bei gewöhnlicher Temperatur 48 Stunden lang mit Wasser in Berührung liessen, ergab sich eine Löslichkeit von 1:44,8 bei 19°.

Es sei noch erwähnt, dass ein im hiesigen Laboratorium früher untersuchtes Leucinpräparat, welches aus reifem Käse dargestellt worden war, 41 Th. Wasser von 15° zur Lösung bedurfte. Dass diesem Präparat durch wiederholtes Umkrystallisiren eine Löslichkeit hätte gegeben werden können, welche den vorher angegebenen Zahlen noch näher liegt, darf vielleicht als wahrscheinlich bezeichnet werden.

Auch mit der optisch inaktiven Glutaminsäure, welche nach unseren früheren Bestimmungen 45 Th. Wasser von 19—20° zur Lösung bedurfte, wurden noch einige Versuche angestellt. Wir krystallisirten dieselbe wiederholt aus Wasser um, unter Beseitigung der gesammten Mutterlaugen. Sie zeigte nun eine Löslichkeit von 1:58,7 bei 18°. Nach nochmaligem Umkrystallisiren des betreffenden Präparates ergab sich für dasselbe eine Löslichkeit von 1:59,1 bei 17°. Die Differenz dieser Zahlen liegt jedenfalls vollständig innerhalb der Fehlergrenze der Bestimmungen. Bei Ausführung der im Vorigen mitgetheilten Bestimmungen liessen wir die Glutaminsäure 48 Stunden lang unter häufigem Umschütteln mit der Flüssigkeit in Berührung, nachdem anfangs schwach erwärmt worden war. Wir haben aber mit dem reinsten Präparat zwei Bestimmungen auch noch in der Weise ausgeführt, dass wir dasselbe nur bei gewöhnlicher Temperatur unter häufigem Umschütteln mit Wasser behandelten. Die eine Bestimmung, bei welcher wir die Lösung nach 24 Stunden von den Krystallen abfiltrirten, ergab eine Löslichkeit von 1:60,9 bei 17°, die zweite Bestimmung, bei welcher nach 48 Stunden filtrirt wurde, eine Löslichkeit von 1:59,5 bei 19°.

Da in unserer früheren Abhandlung in Bezug auf die Identificirung der bei Spaltung des Conglutins durch Salzsäure erhaltenen Asparaginsäure keine näheren Angaben gemacht worden sind, so theile ich darüber noch Folgendes mit: Das aus dem Bleiessigniederschlage abgeschiedene Rohprodukt wurde in das Kupfersalz übergeführt, welches die

charakteristische Form des asparaginsauren Kupfers zeigte. Wir zerlegten das letztere, nachdem es abfiltrirt und ausgewaschen worden war, durch Schwefelwasserstoff; die so gewonnene, in kleinen Blättchen krystallisirende Amidosäure, welche das Aussehen der Asparaginsäure zeigte, wurde für eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode verwendet:

0,3322 gr. der bei 100° getrockneten Substanz geben 0,034472 gr. N.

	Berechnet für $C^4H^7NO^2$	Gefunden:
N	10,53%	10,38%

Der Kupfergehalt des lufttrockenen Kupfersalzes[1]) entsprach der für das wasserhaltige asparaginsaure Kupfer gewöhnlich angegebenen Formel $C^4H^5NO^4Cu + 4\frac{1}{2}\ H_2O$, wie die folgenden Zahlen beweisen:

0,3635 gr. Substanz gaben 0,1050 gr. Cu O.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu	23,02%	23,06%

Als eine aus verdünnter Essigsäure umkrystallisirte Probe des Kupfersalzes zuerst bei 100°, dann bei ca. 150° getrocknet worden war[2]), besass sie einen der Formel des wasserfreien asparaginsauren Kupfers entsprechenden Kupfergehalt:

0,2475 gr. Substanz gaben 0,1015 gr. Cu O.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu	32,62%	32,75%

Auf S. 99 unserer Abhandlung haben wir über das specifische Drehungsvermögen der bei der Spaltung des Conglutins durch Salzsäure erhaltenen Glutaminsäure Mittheilung gemacht. Die Darstellung der für die betreffenden

[1]) Dasselbe war durch Wiederüberführung der krystallisirten Asparaginsäure in die Kupferverbindung dargestellt worden.

[2]) C. Gäthgens (diese Zeitschrift, Bd. I, S. 306) fand, dass das durch Umkrystallisiren gereinigte asparaginsaure Kupfer bei 150° entwässert werden kann, ohne weitere Zersetzung zu erleiden; bei anderen, vermuthlich weniger reinen Präparaten trat nach seinen Beobachtungen schon unter 150° Zersetzung ein. Auch bei der reinen Verbindung liegt wohl die Temperatur, bei welcher das letzte Wasser entweicht, derjenigen sehr nahe, bei welcher das wasserfreie Salz sich zu zersetzen beginnt.

Versuche verwendeten Lösungen ist dort nicht ganz genau beschrieben worden; dieselbe geschah in folgender Weise: 1 gr. Substanz (im zweiten Versuche 0,998 gr.) wurde in 12 cbcm. 15 procent. Salzsäure gelöst und die Lösung sodann mit reinem Wasser auf 20 cbcm. aufgefüllt; in den 20 cbcm. waren also neben der Glutaminsäure 1,8 gr. HCl enthalten. Es sei hier noch erwähnt, dass wir für ein aus Glutamin dargestelltes Glutaminsäurepräparat unter den gleichen Versuchsbedingungen dasselbe Drehungsvermögen fanden, welches sich in den beschriebenen Versuchen für die aus dem Conglutin erhaltene Glutaminsäure ergab.

Sodann ist noch zu erwähnen, dass die auf S. 85 unserer Abhandlung über das optische Verhalten der synthetisch dargestellten Phenyl-α-Amidopropionsäure von uns gemachte Annahme durch eine Mittheilung des Herrn Prof. Erlenmeyer uns bestätigt wurde. In Bezug auf die Gewinnung der Phenylamidopropionsäure aus den durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebrachten Niederschlägen sei erwähnt, dass die aus diesen Niederschlägen abgeschiedenen Amidosäuren-Gemenge in einigen Fällen ein wenig Tyrosin einschlossen. Die Beseitigung des letzteren ist natürlich leicht; es bleibt fast vollständig zurück, wenn man die übrigen Amidosäuren in schwach erwärmtem Wasser oder in heissem verdünntem Weingeist löst.

In Bezug auf die Identificirung der Benzoësäurepräparate, welche bei der Oxydation der aus dem Caseïn und aus dem Leim gewonnenen Amidosäuren erhalten wurden ist noch nachzutragen, dass dieselben, (nachdem sie wie sich von selbst versteht, möglichst gereinigt worden waren) im Capillarröhrchen zwischen 120° und 121° schmolzen.

Schliesslich will ich noch einige den Sinn entstellende Druckfehler berichtigen, welche bei der Correctur unserer früheren Abhandlung übersehen wurden. Auf S. 70 in der 20. Zeile von oben ist zu lesen «versetzt» statt «zersetzt», auf S. 77 in der 24. und 25. Zeile v. o. «unter allen Umständen» statt «unter Umständen», auf S. 96 in der 10. Zeile v. o. «aus 100 Theilen» statt «aus 10 Theilen», auf S. 109

in der 8. Zeile v. o. «salzsaure» statt «Salzsäure» und auf S. 124 in der 8. Zeile v. u. «Leucein» statt «Leucin». Ferner sollte es auf S. 96 in der 14. Zeile v. o. heissen: «Ob nur die Abscheidung der Säure eine unvollständige war» statt: «Ob die Abscheidung der Säure eine unvollständige war»[1]), und auf S. 106 in der 10. Zeile v. o. «in geringerer Menge» statt «in geringer Menge.» An letzterer Stelle sollte gesagt werden, dass die durch den Weingeistzusatz hervorgebrachte syrupförmige Ausscheidung jedenfalls neben glutaminsaurem Baryum noch andere Substanzen einschloss, deren Menge allem Anscheine nach geringer war, als die des oben genannten Salzes. Für unbeträchtlich können wir aber diese Beimengungen nicht erklären; als wir die oben genannte syrupförmige Ausscheidung in Wasser lösten, das Baryum durch Schwefelsäure ausfällten und die in Freiheit gesetzte Glutaminsäure sodann auskrystallisiren liessen, blieb eine ziemlich starke Mutterlauge übrig, deren Substanzgehalt wohl kein geringer war.

---

[1]) Dass die Abscheidung der Glutaminsäure in Form ihrer Salzsäureverbindung keine ganz vollständige war, kann kaum in Frage gestellt werden; es ist ja dies auch auf S. 97 unserer Abhandlung ausgesprochen worden.

Ueber das Schicksal des Cysteins und über die Entstehung der Schwefelsäure im Thierkörper.

Von

E. Goldmann, cand. med.

(Aus dem Universitäts-Laboratorium, Abtheilung der medicinischen Fakultät Freiburg i. B.)
(Der Redaktion zugegangen am 31. Dezember 1884).

Das Cystin ist bis jetzt nur im Harn und in Harnconcrementen in wesentlichen Mengen gefunden worden. Es liegen zwar einige Beobachtungen vor, nach welchen dieser Körper in kleineren Mengen auch in der Leber, der Niere und anderen Organen vorkommt, es ist aber noch nicht erwiesen, dass der in den Organen gefundene schwefelhaltige Körper mit dem aus dem Harne gewonnenen Cystin identisch ist. Analysen desselben scheinen nicht ausgeführt zu sein, wohl wegen der zu geringen Menge, welche von der schwefelhaltigen Substanz gewonnen werden konnte.

Wegen seines Stickstoff- und Schwefelgehaltes ist das Cystin wohl mit Recht stets als ein Umwandlungsprodukt der Eiweisskörper betrachtet worden. Ueber die Art und Weise seiner Entstehung ist aber bis jetzt nichts bekannt. Bis vor Kurzem war die Frage eine offene, ob das Cystin ein regelmässiges Produkt des Stoffwechsels ist, welches unter normalen Verhältnissen durch die Prozesse des Thierkörpers weiter verändert und nur unter besonderen, noch unbekannten Bedingungen im Harne ausgeschieden wird, oder ob das Cystin ein abnormes Stoffwechselprodukt darstellt, welches, wenn überhaupt im Organismus gebildet, in den Harn in grösseren oder kleineren Mengen übertritt.

Neuere Untersuchungen von Baumann und Preusse[1]) und von Jaffe[2]) haben aber gezeigt, dass unter den normalen Stoffwechselprodukten beim Hunde und anderen Thieren ein schwefelhaltiger Körper vorkommt, welcher nach Eingabe von Chlor-, Brom- oder Jodbenzol in einer Verbindung mit dem aromatischen Reste des Benzolderivates aus dem Harne gewonnen werden kann. Die auf diesem Wege gewonnenen Substanzen, welche den Namen der Mercaptursäuren — weil sie leicht Mercaptane abspalten — erhalten haben, stehen nach den Untersuchungen Baumann's[3]) nicht nur in einer nahen Beziehung zu dem Cystin, sondern stellen Derivate des Cystins $C_6 H_{12} N_2 S_2 O_4$[4]) oder des Cysteins ($C_3 H_7 NSO_2$) d. h. der Amidothiomilchsäure dar. Der Atomcomplex des Cysteins, welches schon an der Luft durch Oxydation in Cystin übergeht, ist nach Baumann in den Mercaptursäuren in ganz analoger Weise enthalten, wie der Rest des Glycocolls in der Hippursäure. Daraus geht hervor, dass das Cystin, resp. Cystein, ein intermediäres Produkt des normalen Stoffwechsels darstellt.

In einigen Fällen von Cystinurie hat man versucht, die Ausscheidung des Cystins zu anderen Stoffwechselprodukten, der Harnsäure, dem Harnstoff und insbesondere der Schwefelsäure in Beziehung zu bringen; dabei wurden aber z. Th. widersprechende Resultate gewonnen. Die Untersuchungen von Loebisch[5]) zeigten, dass bei der Cystinurie die Ausscheidung von Harnstoff und Harnsäure nicht bemerkbar verändert oder herabgesetzt ist, wie die älteren Autoren geglaubt haben. Derselbe Autor hat an einer grossen Reihe von Tagen die Menge des Cystins im Harne mit der gleichzeitigen Schwefelsäureausscheidung verglichen. Dabei ergab

---

1) Baumann und Preusse: Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 12, S. 806. — Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V, S. 309.

2) Jaffe: Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XII, S. 1092.

3) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VIII, S. 296.

4) Vergl. Külz: Zeitschrift für Biologie, Bd. 20, S. 1.

5) Liebig's Annalen der Chemie, Bd. 182, S. 251.

sich kein constantes Verhältniss und Loebisch zieht aus den von ihm gefundenen Werthen in dieser Beziehung selbst keinen Schluss. Doch möchte ich hier darauf hinweisen, dass an mehreren Tagen der von Loebisch ausgeführten Versuchsreihe einer bedeutenden Cystinausscheidung (0,5 gr. und darüber) eine relativ geringe Menge der Schwefelsäure im Harne entspricht.

Dagegen fanden Tollens und Niemann[1]), dass mit der Cystinausscheidung der Gehalt des Harns an Schwefelsäure parallel geht, und einer Steigerung der Cystinproduktion eine vermehrte Schwefelsäureausscheidung entspricht. Zu einem gleichen Resultate war schon früher Beale[2]) gelangt. Tollens und Niemann ziehen aus ihren Beobachtungen den Schluss, welchen Ebstein[3]) und Niemann[4]) weiter ausführen, dass Schwefelsäure und Cystin im Harne nicht in einer direkten genetischen Beziehung zu einander stehen, sondern neben einander, wohl aus einem dritten Körper gebildet werden.

Alle bisherigen Versuche über die Beziehungen des Cystin zu anderen Stoffwechselprodukten sind aber beim Menschen ausgeführt und unter Umständen, wo eine vollkommen gleichmässige Ernährung nicht durchgeführt werden konnte. Da man nun bei Thieren gewissermassen willkürlich Cystinurie, d. h. die Ausscheidung eines Körpers, welcher den Atomcomplex des Cystins enthält, herbeiführen kann, so war damit, wie Baumann und Preusse[5]) schon vor einigen Jahren bemerkten, ein neuer Weg vorgezeigt, auf welchem man über das Verhältniss des Cystins zur Schwefelsäure-Ausscheidung und anderen Stoffwechselprodukten neue Aufschlüsse gewinnen kann.

Auf Anregung des Herrn Prof. Baumann habe ich zunächst versucht, die Frage zur Entscheidung zu bringen,

---

1) Tollens und Niemann: Liebig's Annalen, Bd. 187, S. 101.

2) Beale: Urine, urinary deposits and calculi. 1864, 2 edit. London. S. 355.

3) Ebstein: Deutsches Archiv für klinische Medicin, Bd. 23, S. 138.

4) Niemann: Ebendaselbst, Bd. 18, S. 232.

5) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V, S. 340.

ob das als intermediäres Stoffwechselprodukt auftretende Cystin oder Cystein unter normalen Verhältnissen in Schwefelsäure oder in andere schwefelhaltige, organische Verbindungen umgewandelt wird, welche gleichfalls im Harne ausgeschieden werden. Im ersten Falle würde das Cystin als Bildungs-Material der Schwefelsäure, incl. der Aetherschwefelsäuren, im zweiten Falle als eine Vorstufe der noch wenig bekannten Harnbestandtheile zu betrachten sein, deren Schwefelgehalt gewöhnlich als «nicht oxydirter» [1]) auch als «neutraler Schwefel» [2]) des Harnes bezeichnet wird. Der Kürze wegen wird auch im Folgenden der Schwefelgehalt der zuletzt genannten organischen Verbindungen, nach dem Vorgange von Voit als «nicht oxydirter Schwefel» aufgeführt werden.

Wenn das Cystin im normalen Stoffwechsel in die letzteren Stoffe übergeht, so ist zu erwarten, dass während der Cystinurie das Verhältniss von oxydirten (Schwefelsäure + Aetherschwefelsäure) zum nicht oxydirten Schwefel nicht wesentlich geändert wird. Gegen diese Annahme spricht von vorneherein der Umstand, dass zuweilen über 0,5 gr. Cystin (Loebisch und Niemann, l. cit.) im Tagesharn vom Menschen ausgeschieden wird, d. h. eine Menge, welche ebensoviel oder mehr Schwefel enthält, als die normale Ausscheidung an nicht oxydirtem Schwefel beträgt. Indessen fehlen noch genauere Bestimmungen über das Verhältniss des Schwefelgehaltes im Cystin zur Gesammtausscheidung der schwefelhaltigen Verbindungen im Harn.

Wird dagegen das Cystin im normalen Stoffwechsel weiter in Schwefelsäure verwandelt, so muss bei Eintritt der Cystinausscheidung eine Aenderung des Verhältnisses von oxydirtem zu nicht oxydirtem Schwefel zu Gunsten des letzteren erfolgen.

Die Cystinausscheidung wurde in den folgenden Versuchen bei Hunden durch Fütterung mit Chlorbenzol hervorgerufen. Die genaue Feststellung des Verhältnisses zwischen

---

[1]) Voit und Bischoff: Die Ernährung des Fleischfressers. S. 281, 1860.

[2]) Virchow's Archiv, Bd. 58, S. 472. Salkowski: Ueber die Entstehung der Schwefelsäure im thierischen Organismus.

oxydirtem und nicht oxydirtem Schwefel geschah vor und nach der Eingabe von Chlorbenzol. Während der Dauer des Versuches blieb die Art des Futters durchaus constant.

Die Bestimmungen des Schwefels wurden nach den bekannten Methoden ausgeführt: der Gesammtschwefel wurde in je 20 cbcm. Harn nach dem Glühen mit Aetz-Kali und Salpeter bestimmt, die Schwefelsäure (incl. Aetherschwefelsäure) in einer zweiten, gleichen Portion des mit Salzsäure gekochten Harnes. Selbstverständlich kamen nur schwefelfreie Reagentien in Anwendung. Die ersten Analysen des Harnes wurden ausgeführt, während das Versuchsthier mit Küchenabfällen ernährt wurde.

Hierbei zeigte es sich, dass das Verhältniss von oxydirtem zu nicht oxydirtem Schwefel ein wechselndes ist, oder vielmehr grösseren Schwankungen unterliegt, als es bei der gleichmässigen Ernährung der Fall ist. In der nachfolgenden Tabelle sind die Ergebnisse dieser ersten Bestimmungen, die mehr zur Orientirung dienten, zusammengestellt. Nicht unerwähnt möchte ich es lassen, dass bereits Kunkel[1]) den Einfluss der verschiedenen Ernährungsweise auf das Verhältniss der Schwefelausscheidung bestimmt hat. Er fand, dass mit Aenderung der Quantität einer gleichartigen Nahrung das Verhältniss gleich bleibt, durch Aenderung der Qualität der Nahrung dasselbe ein anderes wurde.

Tabelle I.

Datum.	Harnmenge.	Oxydirter Schwefel[2]). (A).	Nicht oxydirter Schwefel. (B).	Gesammt-Schwefel.	Verhältniss A:B.
1884.					
8. Aug.	20 cbcm.	0,012 gr.	0,005 gr.	0,017 gr.	1:0,42
9. «	20 «	0,0115 «	0,0037 «	0,0152 «	1:0,32
14. «	20 «	0,0115 «	0,0040 «	0,0155 «	1:0,35
19. «	20 «	0,0096 «	0,0019 «	0,0115 «	1:0,2

1) Kunkel: Ueber den Stoffwechsel des Schwefels im Thierkörper. Pflüger's Archiv, Bd. 14, S. 344.

2) Unter A (oxyd. Schwefel) sind Sulphate + Aetherschwefelsäuren begriffen.

Nunmehr wurde gleichmässige Ernährung eingeführt, wobei dem Hunde täglich zwei Pfund des käuflichen Hundezwiebacks verabreicht wurden. Der Durchschnittswerth von sieben Analysen ergab das Verhältniss von oxydirtem zu nicht oxydirtem Schwefel = 1:0,38.

Genau die gleiche Verhältnisszahl für die Ausscheidung des Schwefels in den beiden Formen berechnet sich aus einer Versuchsreihe an Hunden, die Salkowski[1]) ausgeführt hat. Kunkel (l. cit.) giebt eine etwas höhere Zahl an; es beträgt der von ihm für dasselbe Verhältniss gefundene Werth 1:0,47, er weicht also nur um ein geringes von der obigen Zahl ab.

Tabelle II.

Datum.	Harnmenge.	Spec. Gewicht	Oxydirter Schwefel (A).	Nicht oxydirter Schwefel (B).	Gesammt-Schwefel.	Verhältniss A : B.
1884.						
2. Sept.	220 cbcm.	1,042	0,2357 gr.	0,0816 gr.	0,3173 gr.	1 : 0,346
5. «	150 «	1,046	0,1663 «	0,0582 «	0,2245 «	1 : 0,35
6. «	254 «	1,043	0,238 «	0,1074 «	0,3454 «	1 : 0,451
7. «	153 «	1,048	0,1837 «	0,0693 «	0,253 «	1 : 0,377
8. «	153 «	1,048	0,1837 «	0,0693 «	0,253 «	1 : 0,377
9. «	234 «	1,044	0,2414 «	0,0928 «	0,3342 «	1 : 0,384
10. «	184 «	1,045	0,2103 «	0,0723 «	0,2826 «	1 : 0,344
Mittelwerthe:	193 cbcm.	—	0,2084 gr.	0,0787 gr.	0,2871 gr.	1 : 0,38

Nicht unwichtig erscheint es mir darauf hinzuweisen, dass Salkowski bei einigen an Kaninchen angestellten Versuchen ein ganz anderes Verhältniss fand (1:0,238). Die Ausscheidung von nicht oxydirtem Schwefel scheint bei Pflanzenfressern eine viel geringere zu sein, als bei Fleischfressern. Ein besonderes Interesse dürfte diese Thatsache beanspruchen, wenn erst die als nicht oxydirter Schwefel zur Ausscheidung kommenden Körper ein eingehenderes Studium erfahren haben.

---

[1]) Ueber die Entstehung der Schwefelsäure u. s. w. Virchow's Archiv, Bd. 58, S. 504.

Am 12. September erhielt der Hund 15 gr. Chlorbenzol, die er ohne jegliche Verdauungsstörung ertrug. Der Harn des folgenden Tages zeigte, wie zu erwarten war, eine starke Linksdrehung und die charakteristischen Reactionen der Mercaptursäuren. Aus dem stark angesäuerten Harne crystallisirte allmählich Chlorphenylmercaptursäure aus. Die durch das Chlorbenzol bewirkte Aenderung der Schwefelausscheidung im Harne erhellt aus der nachstehenden Tabelle.

Tabelle III.

Datum.	Drehung.	Harnmenge.	Spec. Gewicht.	Oxydirter Schwefel (A[1]).	Nicht oxydirter Schwefel (B).	Gesammt-Schwefel	Verhältniss A : B
1884.							
13. Sept.	5° L.-Dr.	340 cbcm.	1,050	0,4552 «	0,3223 gr.	0,7775 gr.	1 : 0,708
14. «	4° 10′	290 «	1,040	0,1593 «	0,2599 «	0,4192 «	1 : 1,631
15. «	1° 40′	386 «	1,036	0,1352 «	0,2187 «	0,3539 «	1 : 1,617
16. «	—	222 «	1,037	0,0793 «	0,0884 «	0,1677 «	1 : 1,115
17. «	—	244 «	1,044	0,0955 «	0,1072 «	0,2027 «	1 : 1,122
18. «	—	240 «	1,045	0,262 «	0,132 «	0,394 «	1 : 0,503
19. «	—	272 «	1,042	0,311 «	0,156 «	0,467 «	1 : 0,501
20. «	—	314 «	1,043	0,2835 «	0,1413 «	0,4248 «	1 : 0,49
23. «	—	222 «	1,047	0,218 «	0,117 «	0,335 «	1 : 0,53

1) Unter A (oxydirter Schwefel) sind die Sulphate, sowie die Aetherschwefelsäuren begriffen.

Die bedeutende Steigerung in der Gesammt-Schwefelausscheidung an dem ersten und zweiten Tage nach der Chlorbenzolfütterung zeigt, dass das Chlorbenzol zunächst

einen erhöhten Zerfall der Eiweisskörper hervorruft. Der vermehrten Schwefelausscheidung folgen mehrere Tage, in welchen die absolute Menge des Schwefels im Harne von 24 Stunden vermindert ist. Der verminderten Schwefelausscheidung folgt wieder eine Steigerung, bis am 10. Tage nach der Chlorbenzol-Eingabe die Schwefelausscheidung ungefähr zur Norm zurückkehrt. Die vermehrte Ausscheidung des Gesammtschwefels ist begleitet von einer Steigerung der Harnsecretion selbst. Viel bedeutender aber als die Gesammt-Ausscheidung des Schwefels wird das Verhältniss von oxydirtem zu nicht oxydirtem Schwefel verändert. Diese Aenderung zeigt sich schon am ersten Tage, wo die Ausscheidung des nicht oxydirten Schwefels auf das 4fache der Norm steigt, während die Schwefelsäureausscheidung nur etwa das doppelte der Norm beträgt. Die Aenderung dieses Verhältnisses ist am deutlichsten am zweiten Tage, wo die Schwefelsäure-Ausscheidung unter die Norm gesunken ist, während die Ausscheidung des nicht oxydirten Schwefels noch mehr als das 3fache der normalen Menge beträgt.

Die Linksdrehung des Harnes dauert so lange, als die Ausscheidung des nicht oxydirten Schwefels erheblich gesteigert ist. Doch ist bemerkenswerth, dass die Aenderung dieses Verhältnisses noch in geringerem Masse und allmählich abnehmend sich über die ganze Dauer des Versuches erstreckt. Das Verhältniss ist am zehnten Tage noch nicht wieder vollständig zur Norm zurückgekehrt.

Aus den eben geschilderten Versuchen geht hervor, dass durch die Ausscheidung der Mercaptursäure der Gehalt des Harnes an nicht oxydirtem Schwefel beträchtlich zunimmt, während die Schwefelsäureausscheidung anfangs relativ, später auch absolut vermindert erscheint. Daraus geht aber weiter hervor, dass der in Form von Mercaptursäure, d. h. eines substituirten Cysteins ausgeschiedene Schwefel unter normalen Verhältnissen zum grösseren Theile in Form von Schwefelsäure zur Ausscheidung kommt.

Diese Folgerung steht mit den von Niemann und Ebstein und den älteren von Beale aus einigen Fällen von

Cystinurie des Menschen gezogenen Schlüssen in Wiederspruch.

Es war desshalb von Interesse, die Resultate des ersten Versuches durch eine zweite Versuchsreihe zu bestätigen und womöglich festzustellen, ob durch eine noch grössere Zufuhr von Chlorbenzol eine entsprechende weitere Steigerung der Ausscheidung von nicht oxydirtem Schwefel erzielt werden kann. Zu diesem Behufe erhielt ich den Hund — dasselbe Versuchsthier, wie im ersten Falle — zunächst auf der oben angegebenen gleichmässigen Art der Ernährung, wobei er, entgegen dem früheren Versuche beliebig viel Wasser zu sich nehmen konnte. Sodann bekam dasselbe während längerer Zeit schwächere Dosen von Chlorbenzol, die am 16. Oktober auf 15 gr. gesteigert wurden.

Zunächst ging die Harnmenge stark in die Höhe. Sodann trat die Steigerung in der Ausscheidung von Schwefel in beiden Formen auf; das Verhältniss wurde wieder stark zu Gunsten des nicht oxydirten Schwefels geändert. Bezeichnend ist die abnorm hohe Ausscheidung von nicht oxydirtem Schwefel, welche um 0,3 gr. höher ist als im ersten Versuche.

Am folgenden Tage (17. Oktober) bekam der Hund weitere 17. gr. Chlorbenzol. Der nach der grösseren Benzolgabe entleerte Harn zeigte eine weitere Abnahme des oxydirten Schwefels und eine Zunahme des nicht oxydirten Schwefels gegenüber dem Harne der vorhergehenden Tage, so dass am 18. Okt. das Verhältniss von oxydirtem zu nicht oxydirtem Schwefel den Werth 1 : 1,308 erreichte.

Tabelle IV.

	Datum.	Drehung.	Harnmenge.	Spec. Gewicht.	Oxyd. Schwefel (A[1]).	Nicht oxydirter Schw. (B).	Gesammt-Schwefel.	Verhältn. A : B.
	1884.		cbcm.		gr.	gr.	gr.	
15 gr. C_6H_5Cl	17. Okt.	2° 20′	1240	1.027	0,345	0,638	0,983	1 : 1,85
17 gr C_6H_5Cl	18. «	3° 20′	792	1,028	0,2175	0,6690	0,8865	1 : 3,08
—	20. «	2° 45′	390	1,037	0,1633	0,3187	0,482	1 : 1,95

[1]) Unter A (oxydirter Schwefel) sind die Sulphate, sowie die Aetherschwefelsäuren begriffen.

Der zweite Versuch lieferte somit die vollkommene Bestätigung des ersten und zeigte, dass durch eine weiter gesteigerte Zufuhr von Chlorbenzol die Ausscheidung von nicht oxydirtem Schwefel so weit vermehrt werden kann, dass die Ausscheidung des nicht oxydirten Schwefels das 3fache beträgt von der Menge des Schwefels, welcher in Form von Schwefelsäure + Aetherschwefelsäure im Harn erscheint.

Wenn die Mercaptursäuren in der That nichts anderes sind als substituirte Cysteine, somit denselben Atomcomplex wie das Cystin enthalten, so darf man aus den geschilderten Versuchen den Schluss ziehen, dass das im Stoffwechsel als intermediäres Produkt gebildete Cystein, resp. Cystin unter normalen Verhältnissen zum grössten Theile weiterhin in Schwefelsäure umgewandelt wird, dass somit das Cystein als eine der Vorstufen der Schwefelsäureausscheidung im Harne zu bezeichnen ist. Die Richtigkeit dieses Schlusses gelang es mir noch auf anderem Wege zu bestätigen, nämlich durch die Verfolgung des Schicksals des dem Stoffwechsel einverleibten Cysteins selbst. Wegen der Kostbarkeit des Cysteins, welches aus dem Cystin in der von Baumann[1]) beschriebenen Weise dargestellt wurde, diente zu dem folgenden Versuche ein viel kleinerer Hund, als der erste war. Da bei demselben die Harnentleerung keine regelmässige war, wurde immer der Harn von je zwei Tagen zu den Analysen benutzt. Die Fütterung des Hundes bestand aus ½ Pfund Fleisch und ½ Liter Milch.

Am 17. November wurden 2,02 gr. Cystein als salzsaures Salz in Milch gelöst eingegeben. Die Eingabe war von keinerlei Verdauungsstörungen gefolgt. Die Verhältnisse der Schwefelausscheidung vor dem Versuche und nach der Cystein-Fütterung ergaben sich aus der folgenden Tabelle.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 299.

Tabelle V.

	Datum.	Harnmenge.	Spec. Gewicht.	Oxyd. Schwefel (A[1]).	Nicht oxydirter Schw. (B.)	Gesammt-Schwefel.	Verhältn. A : B.
	1884.	cbcm.		gr.	gr.	gr.	
—	14, + 15. Nov.	186	1044	0.3576	0,0984	0,456	1:0,275
2,02 gr. Cyst.	18. + 19. Nov.	152	1059	0,801	0,264	1,065	1:0,329
2,02 gr. Cyst.	Control-Analyse.	—	—	0,803	0,260	1,063	1:0,324
—	20. + 21. Nov.	103	1060	0,35	0,076	0,426	1:0,22

Wegen der Wichtigkeit des Versuches wurde die Analyse des Harns nach der Cystinfütterung 2 mal ausgeführt. Die Werthe der Controlanalyse sind in der Tabelle unter den Zahlen der ersten Analyse angeführt.

Die Steigerung der Schwefelausscheidung war eine etwas beträchtlichere, als dem Schwefelgehalte des zugeführten Cysteins entspricht. 2,02 gr. Cystein enthalten nach der Rechnung 0,533 gr. Schwefel. Thatsächlich beträgt die Mehrausscheidung von Schwefel 0,609 gr. Ob dieses Plus der Schwefelausscheidung durch das eingeführte salzsaure Cystein herbeigeführt wurde, möge dahingestellt bleiben. Jedenfalls ergibt sich aber aus dem Versuche, dass $^2/_3$ des als Cystein dem Organismus zugeführten Schwefels als Schwefelsäure ausgeschieden wird, und ungefähr $^1/_3$ dieses Schwefelgehaltes zur Vermehrung des nicht oxydirten Schwefels beiträgt. Daher kommt es, dass das Verhältniss von oxydirtem zu nicht oxydirtem Schwefel durch die Cysteinfütterung fast gar nicht geändert wird. Diese Thatsache bietet aber eine vollkommene Bestätigung des aus den früheren Versuchen gezogenen Schlusses dar. Das Ergebniss aller vorhergehenden Versuche lässt sich somit dahin zusammenfassen: Das als intermediäres Produkt im Stoffwechsel auftretende Cystin, resp. Cystein wird im Organismus in der Art weiter verändert, dass der grössere Theil des Schwefelgehaltes des

1) Unter A (oxydirter Schwefel) sind die Sulphate, sowie die Aetherschwefelsäuren begriffen.

Cysteins (2/3) bei Hunden im Harne in Form von Schwefelsäure erscheint, während der kleinere Theil des Schwefelgehaltes des Cystins, etwa 1/3, die Form anderer schwefelhaltiger organischer Produkte annimmt.

Bei der Cysteinfütterung war es von besonderem Interesse zu ermitteln, ob etwa ein kleiner Theil des eingegebenen Cysteins im Harne erscheint. Für diesen Nachweis kam besonders zu Statten der Umstand, dass der Harn des Hundes, bei dem die Cysteinfütterung durchgeführt wurde, so gut wie keine unterschweflige Säure enthielt und in dem normalen Harne beim Kochen mit Natronlauge und Zusatz von einigen Tropfen Bleiacetat keine merkbare Menge von Schwefelblei gebildet wurde. Auch der nach der Cysteinfütterung entleerte Harn des Thieres gab beim Kochen mit dem gleichen Volumen Natronlauge und wenig Bleiacetat keine Ausscheidung von Schwefelblei. Daraus geht hervor, dass das eingegebene Cystein eine vollkommene Umwandlung im Stoffwechsel erfahren hat. Der nach der Cysteineingabe entleerte Harn gab nach schwachem Ansäuern mit Salzsäure auf Zusatz von einigen Tropfen Eisenchlorid keine rothe Färbung; die Rhodanverbindungen des Harnes gehören somit höchstwahrscheinlich nicht zu den weiteren Umwandlungsprodukten des Cysteins.

Durch einen besonderen Versuch wurde auch festgestellt, dass bei der in Folge der Cysteinfütterung bewirkten Mehrausscheidung von oxydirtem Schwefel nur die Schwefelsäure, d. h. die Sulphate, nicht die Aetherschwefelsäuren betheiligt waren.

Es wäre noch von besonderem Interesse zu ermitteln, welches die schwefelhaltigen organischen Verbindungen sind, die neben der Schwefelsäure aus dem Cystin im Organismus gebildet worden sind. Es ist nach dem oben Gesagten wahrscheinlich, dass diese Körper identisch sind mit den im normalen Harne vorkommenden schwefelhaltigen organischen Körpern. Für weitere Versuche in dieser Richtung stand mir leider keine genügende Menge von Cystin zu Gebote. Doch möchte ich hier noch eine Beobachtung anfügen, die zeigt, dass der nicht oxydirte Schwefel des Hundeharns relativ

beständigen Verbindungen angehört, welche durch die Fäulniss auch nach mehreren Wochen noch nicht zersetzt werden.

In der folgenden Tabelle sind die Werthe für den Gehalt eines Hundeharns an oxydirtem und nicht oxydirtem Schwefel zuerst im frischen Zustande, sodann nach einer 5 wöchentlichen Fäulniss enthalten. Bei der Fäulniss des Harns bildete sich eine kleine Menge von Schwefelwasserstoff, die, wie die Analyse zeigt, aus den Sulphaten entstanden ist.

Tabelle VI.

Datum.	Spec. Gewicht.	Oxydirter Schwefel (A[1]).	Nicht oxydirter Schwefel (B).	Gesammt-Schwefel.	Verhältniss A : B.
1884.					
1. September	1,044	0,228 gr.	0,086 gr.	0,314 gr.	1 : 0,38
5. Oktober.	1,044	0,1734 «	0,0866 «	0,26 «	1 : 0,49

Die Menge des nicht oxydirten Schwefels wurde durch die Fäulniss gar nicht geändert.

---

1) Unter A (oxydirter Schwefel) sind die Sulphate, sowie die Aetherschwefelsäuren begriffen.

Ueber den Gehalt des Caseins an Schwefel und über die Bestimmung des Schwefels in Proteinsubstanzen.

Von

Olof Hammarsten.

(Der Redaktion zugegangen am 8. Januar 1885.)

Bei Gelegenheit einiger anderen Untersuchungen über das Casein fand ich es auch nothwendig, einige Bestimmungen des Schwefels in diesem Eiweissstoffe auszuführen. Die dabei verwendeten Methoden waren theils die gewöhnliche — Verbrennung der Substanz mit Salpeter und Soda — und theils eine Modification derselben Methode, welche in der Hauptsache darin bestand, dass ich erst die Hauptmasse des Caseins im Wasserbade mit Salpetersäure zerstörte und dann den mit kohlensaurem Natron übersättigten, in einem silbernen Tiegel eingetrockneten Rückstand verbrannte. Die nach den beiden Methoden erhaltenen Zahlen stimmen recht gut mit einander überein; doch erhielt ich nach dem gewöhnlichen Verfahren regelmässig gegen 0,1 % Schwefel weniger als nach der obengenannten Modification desselben. Da ich nun die nach dem modificirten Verfahren erhaltenen, etwas höheren Zahlen als die richtigen betrachtete, theilte ich nur sie in meinem Aufsatze[1]) mit.

Die Zahl der von mir nach dieser modificirten Methode analysirten, auf verschiedene Weise dargestellten Caseinpräparate war 8, und die Zahl der im Ganzen ausgeführten und

[1]) Zur Frage, ob das Casein ein einheitlicher Stoff sei. Diese Zeitschrift Bd. VII, 1883.

mitgetheilten Schwefelbestimmungen 12. Als Mittel aus diesen Analysen fand ich in dem Casein 0,716% oder, wenn die Analysen der 3 ersten Präparate (für deren Richtigkeit ich aus den in meinem Aufsatze angegebenen Gründen nicht ganz sicher einstehen konnte) abgerechnet werden, 0,758% Schwefel. In 4 Fällen hatte ich auch die Bestimmung doppelt gemacht, und in keiner von diesen Doppelbestimmungen betrug die Differenz 0,1%. In dem ersten Falle war sie 0,071%, in dem 2. 0,045%, in dem 3. 0,033 und in dem 4. 0,001%, und dennoch wurde in diesen Doppelanalysen regelmässig etwa doppelt so viel Substanz (gegen 4 gr.) zu der einen wie zu der anderen (etwa 2 gr.) Bestimmung genommen. Auf die Reindarstellung der verschiedenen Caseinpräparate hatte ich die grösste Sorgfalt verwendet; die zu den Analysen verwendeten Chemicalien hatte ich sorgfältig geprüft, und das kohlensaure Natron, das ich im Handel nicht ganz schwefelfrei erhalten konnte[1]), hatte ich selbst gereinigt.

Unter solchen Umständen glaubte ich für die Zuverlässigkeit meiner Angaben einstehen zu können; und da vor mir kein Forscher eine annährend so grosse Zahl von untereinander gut stimmenden Schwefelbestimmungen in dem Casein ausgeführt hatte, glaubte ich hoffen zu können, dass Diejenigen, welche meine Zahlen auffallend klein finden mussten und aus diesem Grunde ihre Richtigkeit vielleicht anzweifeln wollten, doch erst nach sorgfältiger Prüfung und auf Grundlage einer gewissenhaften experimentellen Kritik ihr Urtheil über meine Arbeit abgeben würden.

Dies ist indessen nicht geschehen, denn fast unmittelbar nach dem Erscheinen meiner Arbeit beeilte sich Herr Danilewsky in einem, in dieser Zeitschrift, Bd. VII, Heft 5 veröffentlichten, gegen mich gerichteten Aufsatze «Zur vorläufigen

---

[1]) Es war zwar nicht schwierig, im Handel ein kohlensaures Natron zu erhalten, welches, wenn von dem krystallwasserhaltigen Salze ein paar gr. zu einer Prüfung genommen wurden, anscheinend frei von Schwefelsäure war. Wenn ich aber von demselben Salze im entwässerten Zustande etwa 10 gr. zu einer Prüfung nahm, erhielt ich stets eine nicht zu vernachlässigende Menge Bariumsulfat.

Abwehr» meine Angaben und meine analytischen Data anzugreifen. Danilewsky hat selbst vor 10—12 Jahren zwei (2) Schwefelbestimmungen in dem Casein ausgeführt und dabei als Mittel 1,089% Schwefel gefunden. Er glaubt weiter in der Litteratur gefunden zu haben, dass die «neuesten» Forscher mit dem seinigen besser übereinstimmende Zahlen für den Schwefelgehalt des Caseins erhalten hatten, und er hat endlich auch die Beobachtung gemacht, dass andere Eiweisskörper, welche, bei Gegenwart von Bleioxydhydrat einige Zeit mit Natronlauge von 2—5—10% erhitzt, Schwefelblei bilden, im Ganzen mehr als 0,7—0,8% Schwefel enthalten. Auf diese letztere Beobachtung legt er besonders Gewicht; er betrachtet desshalb auch die von anderen Forschern gefundenen Zahlen, 0,85—1% Schwefel in dem Casein als zu niedrig und er nimmt in dem Casein mehr als 1% Schwefel an.

Da der von mir gefundene Schwefelgehalt mit dieser Annahme nicht zu vereinbaren ist, erklärt Danilewsky ohne Weiteres meine Zahlen für unrichtig und meine Methode für fehlerhaft, trotzdem dass er diese Methode nie geprüft und, wie es scheint, auch nie von ihr genaue Kenntniss genommen hat.

Bei dieser Sachlage wäre ich wohl in meinem Rechte gewesen, wenn ich ohne Weiteres in einem Artikel «zur vorläufigen Abwehr» die unbegründeten Angriffe Danilewsky's ganz einfach zurückgewiesen hätte. Da aber die Sache selbst durch ein solches Verfahren Nichts hätte gewinnen können, fand ich es richtiger mit meiner Antwort zu warten, bis ich Zeit gehabt hätte, die Frage noch ein Mal möglichst gründlich und gewissenhaft zu prüfen. Dies ist auch der Grund, warum ich erst nach Verlauf von mehr als 1½ Jahren meine Antwort veröffentliche.

Es ist einleuchtend, dass es für die endgültige Feststellung der Menge des Schwefels in dem Casein nicht genügend sein kann, eine noch grössere Zahl von Schwefelbestimmungen nach den oben genannten 2 Methoden auszuführen. Es ist vielmehr nothwendig, ein und dasselbe Casein auch nach anderen Methoden zu analysiren, wobei selbstverständ-

lich gleichzeitig auch Anhaltspunkte für die Beurtheilung des Werthes der verschiedenen Schwefelbestimmungsmethoden gewonnen werden können. Meine Hauptaufgabe bei diesen fortgesetzten Untersuchungen musste also die sein, vergleichende Bestimmungen des Schwefels nach mehreren Methoden in einigen neuen Caseinpräparaten zu machen, und des Vergleiches halber habe ich dabei auch nach denselben Methoden Schwefelbestimmungen in zwei anderen Proteïnstoffen — Ovalbumin und Leim — ausgeführt. Bevor ich zu diesen neuen Bestimmungen übergehe, möchte es mir doch erlaubt sein, die von Danilewsky gegen meine vorige Arbeit erhobenen Einwendungen zuerst ein wenig zu beleuchten.

Bei einigen Nachforschungen in der Litteratur hatte ich bei Lehmann (Lehrbuch der physiologischen Chemie Bd. I, Leipzig 1853, S. 352) gesehen, dass die von älteren Forschern ausgeführten Schwefelbestimmungen in den meisten Fällen für das Casein einen Gehalt von 0,8—0,9 % Schwefel ergeben hatten, und ich citirte auch die Angabe Lehmann's, dass das gereinigte Casein nach den neueren Untersuchungen 0,85 % Schwefel enthalten soll. Ich sprach hierbei auch die Vermuthung aus, dass diese Bestimmungen, welche zu einer Zeit, wo die vielen Schwierigkeiten, welche der Reinigung des Bariumsulfatniederschlages im Wege stehen, noch nicht genügend bekannt waren, ausgeführt wurden, wahrscheinlich doch einen etwas zu hohen Schwefelgehalt des Caseins ergeben hatten.

Gegen die Berechtigung dieser Vermuthung tritt nun Danilewsky auf Grundlage einiger, wie er glaubt, neuerer Analysen auf. Er hat sich nämlich auch zu der Litteratur unserer Frage gewendet und zwar zu dem Handbuche der Chemie von Gmelin-Kraut: Organische Chemie, Bd. IV, Abth. III vom Jahre 1870. Er hat darin S. 2254 folgende Zahlen für den Schwefelgehalt des Caseins gefunden:

«Rühling	0,850—1,017 % S.
Verdeil	0,843—1,017 % S.
Walther	0,933—1,017 % S.
Völkel	1,110 - 1,017 % S.
Schwarzenbach .	0,900—1,110 % S.»

Nachdem er diese Analysen citirt hat, sagt er dann weiter unten: «Um logisch zu verfahren, musste doch Hammarsten behaupten, dass diese neuesten[1]) Forscher viel schlechter als die älteren ihr Bariumsulfat gewaschen haben.»

Da man diese Danilewsky's Citate aus der Litteratur sieht, muss man bedauern, dass er, da er sich beeilte meine Arbeit anzugreifen, keine Zeit hatte, die Arbeiten dieser von ihm citirten «neuesten» Forscher auch zu lesen. Wenn er dies gethan hätte, würde er nämlich bald gesehen haben, dass die Mehrzahl dieser «neuesten» Forscher gerade dieselben älteren Forscher sind, welcher Lehmann in seinem Lehrbuch von 1883 Erwähnung gethan hat.

Die Arbeiten von Rüling (nicht Rühling), Walther und Verdeil erschienen alle drei im Jahre 1846 in den Annalen der Chemie und Phamacie, Bd. 58. Die Arbeit von Völckel (nicht Völkel) wurde in Report of the 25 Meeting of the British Associat, Sept. 1855, S. 73 veröffentlicht und die Arbeit von Schwarzenbach in den Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 133 im Jahre 1865. Mit Ausnahme von der Arbeit Schwarzenbach's, die vor etwa 19 Jahren erschien, sind also die Arbeiten dieser «neuesten» Forscher gegen 30—40 Jahre alt. Die drei erstgenannten Forscher, Rüling, Walther und Verdeil, sind auch dieselben, deren Arbeiten in dem von mir citirten Lehrbuche Lehmann's vom Jahre 1853 referirt worden sind.

Dies Alles kann nun, das will ich gern zugeben, wenig wichtig erscheinen, wenn auch Danilewsky mit Hülfe von diesen Citaten den Werth meiner Angaben zu entkräften sich bemüht hat. Nicht unwichtig dürfte es wohl dagegen sein, dass auch einige der von ihm angeführten Zahlen unrichtig sind. Walther hat im Ganzen drei Caseinpräparate analysirt und dabei nicht 0,933—1,017%, sondern resp.: 0,996%; 0,857% und 0,945%, also im Mittel 0,933% Schwefel gefunden. Verdeil hat nur zwei Caseinpräparate analysirt und dabei nicht 0,843—1,017%, sondern resp.: 0,814% und

[1]) Die Auszeichnung dieses Wortes rührt von mir her.

0,872 %, also im Mittel 0,843 % Schwefel gefunden. Völckel hat ebenfalls nur zwei Schwefelbestimmungen ausgeführt und dabei das eine Mal 1,11 %, das andere Mal dagegen nicht 1,017 %, sondern 1,15 % Schwefel gefunden. Diese letzte Bestimmung bezieht sich indessen auf ein Präparat, welches gegen 7 % Asche enthielt und von Völckel selbst als unrein bezeichnet wurde. Diese Analyse kann also nicht mitgerechnet werden, und es ist also gewiss vollkommen berechtigt, dass nur die erste Analyse in dem Handbuche von Gmelin-Kraut aufgenommen worden ist. Das zu Völckel's Bestimmungen verwendete Casein wurde übrigens aus der Milch mit gesättigter Kochsalzlösung gefällt, wobei eine Verunreinigung des Caseins mit Calciumsulfat aus den Sulfaten des Kochsalzes nicht zu vermeiden ist (chemisch reines NaCl fällt das Casein bei Zimmertemperatur aus der Milch nicht), und es ist also schon aus diesem Grunde schwierig zu sagen, welchen Werth man der einzigen Schwefelbestimmung Völckel's zumessen soll.

In dem Handbuche von Gmelin-Kraut sind die Zahlen richtig citirt; und wenn sie in dem Aufsatze Danilewsky's theilweise unrichtig sind, kann dies wohl also nur von einem Schreib- oder Druckfehler herrühren. Meine Berichtigungen sind darum auch nicht gegen Herrn Danilewsky gerichtet; sie sind nur im Interesse der Wahrheit gemacht.

Nachdem ich in meinem früheren Aufsatze die von Lehmann für den Schwefelgehalt des Caseins angegebene Zahl 0,85 citirt hatte, sprach ich die Vermuthung aus, dass diese Zahl wahrscheinlich doch aus dem Grunde eine etwas zu hohe sei, weil zu jener Zeit, wo diese älteren Analysen ausgeführt wurden, alle die Schwierigkeiten, welche der Reinigung des Bariumsulfatniederschlages im Wege stehen, noch nicht genügend bekannt waren; und ich hob auch weiter unten als eine Unannehmlichkeit bei der Verbrennung mit Salpeter und Alkali den Umstand, dass die Menge des Bariumsulfates durch die Anwesenheit von reichlichen Mengen Alkalisalzen leicht etwas zu hoch ausfallen kann, hervor. Ich bedauere, dass Danilewsky den Sinn dieser

meinen Worte nicht recht verstanden hat. «So weit ich verstanden habe», sagt nämlich Danilewsky, «stellt Hammarsten für die sämmtlichen von Lehmann gedachten Analysen das Auswaschen des Bariumsulfates in Verdacht;» und weiter unten sagt er, dass ich, um logisch zu verfahren, behaupten müsste, dass die neuesten Forscher viel schlechter als die älteren ihr Bariumsulfat gewaschen hätten.

Es ist mir nicht recht verständlich, wie Danilewsky mir einen solchen Vorwurf machen kann. Ich habe nur von der «Reinigung» und nicht von dem «Auswaschen» des Bariumsulfates gesprochen. Es ist nur Danilewsky, der alles Gewicht auf das «Auswaschen» des Bariumsulfates legt, obwohl es doch wohl jedem Chemiker bekannt sein dürfte, dass man mit dem Auswaschen allein, mag dieses noch so gründlich sein, bei der quantitativen Bestimmung der Schwefelsäure in einer Lösung, welche reichliche Mengen von Alkalisalzen, namentlich Nitraten, enthält, nicht zum Ziele kommt. Wir wissen nämlich durch die ausgezeichneten Arbeiten von Fresenius[1]), dass Anwesenheit von Alkalinitraten zu «starker Verunreinigung» des Bariumsulfates führt, und derselbe Forscher hat uns auch gelehrt, dass selbst wenn der gewaschene und darum geglühte Niederschlag mit verdünnter Salzsäure behandelt wird, er an die Säure nur etwa 1/3 der Verunreinigungen abgibt; der Rest kann erst durch Aufschliessen mit kohlensaurem Natron u. s. w. entfernt werden. Diese, nunmehr allbekannte Thatsache zeigt, dass die Reinigung des Bariumsulfates etwas ganz anderes als das Auswaschen desselben ist, und darum habe ich auch durch meine Worte, dass «alle» die Schwierigkeiten, mit welcher die Reinigung des Bariumsulfates verknüpft ist, den älteren Forschern nicht bekannt waren, das Auswaschen der Niederschläge in ihren Analysen weder verdächtig gemacht noch machen wollen. Man kann ja nicht erwarten, dass diejenigen Forscher, welche im Jahre 1846 ihre Analysen veröffentlichten, die von Fresenius erst im Jahre 1870 bekannt gemachten Fehlerquellen kennen würden.

---

[1]) Zeitschrift für analytische Chemie, 9. Jahrg. 1870, S, 52—63.

Wir wollen nun mit Hülfe von den Angaben dieser älteren Forscher sehen, ob meine Vermuthung in der That so unbegründet war, wie Danilewsky es wahrscheinlich zu machen versuchte. Die zwei Forscher Rüling und Walther haben das Casein mit Salpeter und Kalihydrat oder Soda verbrannt; und es wurden beispielsweise zu den Analysen Rüling's in einigen Fällen 36—50 gr. Salpeter und Kali zu je einer Analyse verwendet. Die Schmelze wurde in Wasser gelöst und nach Zusatz von Salzsäure mit $BaCl_2$ gefällt, ohne dass für die Entfernung der Salpetersäure vorher gesorgt wurde. Unter solchen Umständen ist wohl auch kaum daran zu zweifeln, dass diese Forscher ein von Nitraten verunreinigtes Bariumsulfat erhalten haben.

Diese Verunreinigung ist nun in der That auch dem dritten Forscher, Verdeil, nicht entgangen, denn er sagt hierüber in seinem Aufsatze «Schwefelbestimmung einiger organischer Körper» (Annalen d. Ch. u. Ph., Bd. 58, S. 318) Folgendes. «Da bei der Verbrennung ein grosser Ueberschuss an Salpeter nicht zu vermeiden ist, so ist es sehr schwierig, den Niederschlag von schwefelsaurem Baryt, wegen der grossen Menge des gleichzeitig gebildeten, schwerlöslichen salpetersauren Baryts, durch Auswaschen völlig rein von letzterem zu erhalten, wesshalb der geglühte schwefelsaure Baryt auch fast immer alkalisch reagirte. Um einen etwa hierdurch herbeigeführten Fehler zu vermeiden, wurde der geglühte und gewogene schwefelsaure Baryt mit Salzsäure behandelt, von neuem filtrirt und gewogen. Der Unterschied zwischen dem Gewicht des mit Salzsäure ausgezogenen und des nur ein Mal geglühten war oft sehr beträchtlich.»

Von den obengenannten Forschern ist nun also, so weit man aus ihren Aufsätzen ersehen kann, Verdeil der einzige gewesen, der das Bariumsulfat besonders gereinigt hat; und mit Rücksicht auf dieses Verhalten dürfte es vielleicht nicht ganz ohne Interesse sein, dass gerade die von ihm für das Casein gefundene Mittelzahl 0,833% S. am wenigsten, oder mit nur etwa 0,1%, von der meinigen abweicht. Wenn Danilewsky die Arbeiten der von ihm

citirten Verfasser gelesen hätte, würde er wahrscheinlich auch nicht so rasch über meine Arbeit den Stab gebrochen haben.

Die Analysen von Schwarzenbach[1]) haben für das Casein 0,9—1,1% Schwefel ergeben, und diese Analysen sind allem Anscheine nach mit grosser Sorgfalt ausgeführt worden. Sie beziehen sich indessen nicht auf das Casein als solches, sondern auf eine Caseinplatincyanidverbindung; und da in der Abhandlung von Schwarzenbach keine Angaben über die Art und Weise, wie das Casein dargestellt und gereinigt wurde, sich vorfinden, ist es auch nicht möglich, den Werth dieser Analysen ganz sicher zu beurtheilen. Auffallend ist es jedenfalls, dass Schwarzenbach — was er auch selbst hervorhebt — den Schwefelgehalt nicht nur des Caseins, sondern auch des Hühnereiweisses, von dem auch die Platincyanidverbindung analysirt wurde, höher gefunden hat als derselbe sonst angegeben wird. So fand er in dem Eieralbumin als Minimum 1,85%, während er in einer grossen Mehrzahl der Analysen die gewiss auffallend hohen Zahlen 2,1 und 2,2% Schwefel erhielt.

Gegenüber diesen Analysen Schwarzenbach's darf es übrigens nicht vergessen werden, dass in einigen noch neueren Analysen auch niedrigere Zahlen für den Schwefelgehalt des Caseins erhalten worden sind. Ritthausen und Pott[2]), welche die Kupferoxydverbindung des Caseins analysirten, haben auch den Schwefel in 4 Präparaten bestimmt. Von diesen Präparaten war eines aus einer Caseinlösung dargestellt worden, die 20 Tage aufbewahrt worden war, und die Analyse dieses Präparates wird desshalb auch von den Verfassern ausgeschlossen. Die 3 übrigen Analysen ergaben für die Kupferoxydverbindung resp. 0,64; 0,67 und 0,91% Schwefel, woraus der Schwefelgehalt des Caseins zu resp. 0,80; 0,82 und 1,12% sich berechnen lässt.

Die Angaben der verschiedenen Forscher über den

---

[1]) Ueber das Verhältniss des Albumins zum Casein. Annalen der Chemie und Phamacie, Bd. 133, 1865, S. 185.

[2]) Untersuchungen über Verbindungen der Eiweisskörper mit Kupferoxyd. Journal für praktische Chemie 1873. N. F., Bd. 7, S. 361.

Schwefelgehalt des Caseins weichen also so bedeutend von einander ab, dass man den in der Litteratur vorkommenden Angaben keine grosse Beweiskraft zuerkennen kann. Aus diesem Grunde habe ich auch nie in den Zahlen älterer Forscher eine Stütze für meine Angaben gesucht; ich habe nur — wie man aus meinem vorigen Aufsatze über diesen Gegenstand ersehen kann — in ihnen eine Anregung zu weiteren Untersuchungen gefunden.

Ich habe nun die von Danilewsky gegen meine Arbeit gerichteten, aus der älteren Litteratur geholten Einwendungen genügend besprochen, und ich gehe nun zu dem zweiten Theile seiner Einwendungen über.

Danilewsky erinnert in seinen Bemerkungen an die bekannte Thatsache, dass bei dem gewöhnlichen Verfahren — Verbrennen mit Salpeter und Soda — Verluste an Schwefel leicht stattfinden können; und da nach seiner Hypothese das Casein im Ganzen gegen 1,2% Schwefel, darunter 0,7 bis 0,8% oxydirten und etwa 0,4—0,3% unoxydirten, enthalten soll, während ich den gesammten Schwefel in dem Casein zu nur etwas mehr als 0,7% bestimmt hatte, behauptet Danilewsky ohne Weiteres, dass ich bei meinen Bestimmungen die ganze Menge des unoxydirten Schwefels verloren habe. Der Grund dieses Verlustes soll nach seiner Ansicht in der von mir befolgten Methode liegen. Danilewsky sagt nämlich, dass ein Theil des Schwefels bei der Verbrennung leicht in Gasform entweichen kann, «entweder durch zu stürmische Verbrennung in regelrechter Salzmischung oder bei dem vorsichtigen Verbrennen aber in einer Schmelze, welche wenig für die gebildeten Schwefelsäuren disponible Basen enthält»; und er fährt dann fort: «Die letzte Condition wird aber noch drohender bei der Zerstörung der Eiweisskörper in reiner Salpetersäure in offenen Gefässen, wie dieses Hammarsten bei seinen Bestimmungen gethan hat.»

Da der Leser durch diese Worte Danilewsky's vielleicht eine ganz falsche Vorstellung von meinem Verfahren erhalten wird, erlaube ich mir daran zu erinnern, dass ich die Eiweissstoffe mit Salpetersäure in einem bedeckten Ge-

fässe im Wasserbade erwärme, und dass ich die rückständige Masse stets vor dem Verbrennen mit überschüssigem kohlensauren Natron löse und eintrockne. Ein Entweichen von Schwefel würde also in meinen Analysen nur bei dem Erwärmen des Eiweisses mit Salpetersäure im Wasserbade stattgefunden haben können; wie man aber etwas derartiges nur darum annehmen will, weil ein Theil des Schwefels beim Verbrennen in einer Schmelze, welche zu wenig Alkali enthält, entweichen muss, das will mir nicht recht klar werden. Ich bezweifle sehr, dass man aus dem Verhalten einer Substanz bei der Verbrennung mit Salpeter und Soda ohne Weiteres zu den beim Erwärmen mit Salpetersäure im Wasserbade verlaufenden Prozessen schliessen kann; und wenn bei dem ersten Verfahren Verluste an Schwefel stattfinden, berechtigt dies gar nicht zu der Annahme, dass bei dem zweiten auch dasselbe geschehe. Eine solche Annahme hat nun indessen Danilewsky gemacht, und diese Annahme ist auch die einzige Einwendung, die er gegen meine Methode gerichtet hat. Die Methode selbst hat er anscheinend nie versucht und noch weniger einer experimentellen Prüfung unterworfen.

Bei dieser Sachlage will ich hier umsoweniger mit theoretischen Einwendungen gegen die obige Annahme den Leser ermüden, als er binnen Kurzem in die Lage gesetzt werden wird, auf Basis der Thatsachen in dieser Frage ein eigenes Urtheil sich zu bilden. Ich gehe also zu den Untersuchungen über; bevor ich aber die neuen Analysen mittheile, muss ich doch einige Bemerkungen über die von mir geprüften Methoden und das Verfahren im Allgemeinen vorausschicken.

Es ist eine allgemein bekannte Thatsache, dass das Bariumsulfat in sauren Flüssigkeiten nicht unlöslich ist; und nach den Bestimmungen von Fresenius[1]) sollen 1000 cbcm. einer 3procentigen Salzsäure etwa 0,060 gr. Bariumsulfat in Lösung halten können. Mit der Stärke der Säure nimmt die Löslichkeit des Sulfates zu; und wenn man das eine Mal aus einer stark, das andere Mal aus einer schwach sauren

[1]) L. cit.

Flüssigkeit die Schwefelsäure mit $BaCl_2$ fällt, kann man selbstverständlich nicht auf genaue Resultate rechnen. Bei genauer Arbeit muss man für das in Lösung gebliebene Bariumsulfat eine Correction machen, und darum ist es auch nothwendig, in jeder Analyse den Gehalt der Flüssigkeit an Salzsäure genau zu kennen. Aus diesem Grunde habe ich in allen meinen Bestimmungen die Schwefelsäure aus einer Lösung, welche genau 1% HCl enthielt, mit einer Chlorbariumlösung (nunmehr stets von demselben Gehalte an Salzsäure) gefällt. Die Menge des Filtrats wurde dabei natürlich genau gemessen, und aus der Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure von 1% die Menge des in Lösung zurückgebliebenen Sulfates berechnet.

Die Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure habe ich auf dieselbe Weise wie Fresenius[1]) bestimmt. Ich arbeitete dabei mit einer Salzsäure von genau 1% HCl, einer Chlorbariumlösung von 1% HCl und 5% $BaCl_2 + 2H_2O$ und einer $\frac{N}{100}$ Schwefelsäure. Bei diesen Versuchen, wo es ja immer um nur sehr kleine Mengen von Bariumsulfat sich handelte, übte die Menge der zugesetzten $BaCl_2$-Lösung insoferne einen nicht unwesentlichen Einfluss auf die Versuchsresultate aus, als bei Zusatz von sehr kleinen Mengen des Reagenses ein sichtbarer Niederschlag erst nach mehreren Tagen sich zeigte, während ein solcher bei Gegenwart von derselben Schwefelsäuremenge aber bei Zusatz von mehr Chlorbarium schon nach Verlauf von einigen Stunden, und jedenfalls innerhalb 12—18, zum Vorschein kam. Da ich nun bei meinen Schwefelbestimmungen in dem Casein und anderen Proteinsubstanzen den Niederschlag regelmässig nach 24 Stunden abfiltrire, und da ich auf je 100 cbcm. der zu fällenden Flüssigkeit gewöhnlich etwa 5—10 cbcm. Chlorbariumlösung von 5% zusetze, beziehen sich auch meine Bestimmungen von der Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure von 1% stets auf den Fall, dass auf je 100 cbcm. Salzsäure 5—10 cbcm. 5 procentiger $BaCl_2$-Lösung zugesetzt

[1]) L. cit.

werden, und dass die Versuchsflüssigkeit nicht länger als 24 Stunden beobachtet wird.

Für diesen Fall habe ich nun gefunden, dass 1000 cbcm. Salzsäure von 1% kaum 5 mgr. Bariumsulfat in Lösung halten können, was also dem Löslichkeitsverhältnisse 1 : 200000 entspricht. Die Löslichkeit ist übrigens unzweifelhaft eine noch geringere; da es aber sehr schwierig sein kann, einen sehr unbedeutenden Niederschlag ganz sicher zu sehen, will ich mit der obigen Zahl nur die Grenze bezeichnen, wo für mich und auch für andere gar kein Zweifel über das Vorhandensein eines Bariumsulfatniederschlages bestand. Wird die Schwefelsäure mit $BaCl_2$ aus einer Salzsäure von nur 1% gefällt, dürfte wohl also im Allgemeinen eine Correction für das in Lösung zurückgebliebene Bariumsulfat nicht nothwendig sein. Nichtsdestoweniger habe ich in allen meinen Analysen eine solche gemacht, und dabei wurde die Löslichkeit des Sulfates zu 0,5 mgr. in je 100 cbcm. der sauren Flüssigkeit berechnet.

Salpetersaure Alkalien erhöhen die Löslichkeit des Bariumsulfates merklich, während sie auch andererseits zu starker Verunreinigung des Sulfatniederschlages Veranlassung geben können. Aus diesen Gründen ist es ausserordentlich wichtig, in allen Fällen, wo die Lösung, aus welcher die Schwefelsäure gefällt werden soll, erhebliche Mengen von Nitraten enthält, die letzteren zuerst zu entfernen. Zu dem Ende soll man bekanntlich die Flüssigkeit wiederholt mit Salzsäure abdampfen; wenn aber dieses Verfahren zum Ziele führen soll, ist es nothwendig, dass man wiederholt mit überschüssiger Salzsäure im Wasserbade zur Trockne verdampft. Das Austreiben der Salpetersäure mittelst Salzsäure ist nämlich sehr schwierig vollständig zu erreichen, und wenn man nicht einen ziemlich grossen Ueberschuss von Salzsäure zusetzt, kommt man bei Gegenwart von nicht sehr kleinen Mengen Salpeter selbst durch ein 2—3 maliges Abdampfen nicht zum Ziele. Ich habe ziemlich viele Versuche nur um diese Frage zu studiren ausgeführt und ich habe dabei gefunden, dass ein einmaliges Abdampfen selbst bei einem grossen Ueberschuss

von Salzsäure nicht genügend ist, während man in einem solchen Falle mit einem 2—3 maligen Verdampfen zum Ziele kommen kann. Als Beispiel führe ich folgende Versuche an. Es wurden 2 gr. Salpeter (genau abgewogen) in einer Porzellanschale in wenig Wasser gelöst und dann mit 50 cbcm. einer Salzsäure von 25%, also mit einem sehr grossen Ueberschuss von Salzsäure, im Wasserbade zur Trockne verdunstet. Der Rückstand wurde dann im Luftbade vollständig getrocknet, dann in Wasser gelöst und die Menge des Chlorkaliums durch Titration mit einem $\frac{N}{10}$ $AgNO_3$-Lösung bestimmt. Es wurden auf diese Weise in dem Rückstande im Ganzen 1,23 gr. KCl gefunden, während die berechnete Menge, wenn sämmtliche Salpetersäure ausgetrieben worden wäre, 1,475 gr. hätte betragen müssen. Der Rückstand enthielt also gegen 17% KCl zu wenig, und dem entsprechend gab die wässerige Lösung des Rückstandes auch die qualitativen Reactionen der Salpetersäure. Wurden auf dieselbe Weise 2 gr. Salpeter 2 mal mit je 50 cbcm. der 25 procentigen Salzsäure zur Trockne verdunstet, so wurde dagegen die Salpetersäure so vollständig ausgetrieben, dass ich in dem Rückstande 1,46 statt 1,475 gr. KCl fand und in der wässrigen Lösung des Rückstandes nur Spuren von Salpetersäure nachweisen konnte.

Behufs eines vollständigen Austreibens der Salpetersäure ist es also nothwendig mit einem grossen Ueberschuss von Salzsäure zu verdampfen; und das Abdampfen zur Trockne soll dabei mehrmals wiederholt werden. Aus diesen Gründen habe ich auch in allen meinen Analysen, wo die Verbrennung mit Hülfe von Salpeter (oder auch Kaliumchlorat) ausgeführt wurde, 4 oder mindestens 3 mal mit einem grossen Ueberschuss von Salzsäure zur Trockne im Wasserbade verdunstet. Der Rückstand wurde dann im Luftbade scharf getrocknet und zuletzt in Salzsäure von 1% HCl gelöst.

Arbeitet man auf diese Weise, so ist der aus Bariumsulfat bestehende Niederschlag auch regelmässig (dies ist wenigstens meine Erfahrung) so rein, dass sein Gewicht bei regelrechter Behandlung des geglühten Sulfates — sei es durch

Ausziehen mit Salzsäure oder durch Aufschliessen mit kohlensaurem Natron etc. — keine erwähnenswerthe Verminderung erfährt.[1]) Um ganz sicher zu sein, habe ich es doch am räthlichsten gefunden, das Bariumsulfat (wo die Verbrennung mit Hülfe von ziemlich viel Salpeter geschah) durch Aufschliessen mit kohlensaurem Natron zu reinigen.

Ich brauche wohl kaum zu erwähnen, dass ich alle die von mir benutzten Reagentien einer sorgfältigen Prüfung unterworfen habe; und da ich in den Analysen die Schwefelsäure stets aus einer nur schwach sauren Lösung (1% HCl) fälle, habe ich auch meine Reagentien bei demselben Gehalte der Lösungen an Salzsäure geprüft. Von der Nothwendigkeit eines solchen Verfahrens habe ich Gelegenheit gehabt mich zu überzeugen, und ich habe gesehen, dass eine Verunreinigung mit Schwefelsäure, wenn man eine ohne Weiteres angesäuerte Lösung mit $BaCl_2$ prüft, leicht übersehen werden kann. So erhielt ich z. B. ein Mal ein Kalihydrat, das als alkoholgereinigtes eingekauft war und auch ganz schwefelsäurefrei sein sollte. Dieses Kalihydrat wurde nun auch von einem Assistenten auf Schwefelsäure mit negativem Erfolge geprüft; da ich aber später das Präparat in der Weise prüfte, dass ich die Lösung des Hydrates in Wasser erst mit Salzsäure neutralisirte und dann mit 1% HCl die Lösung ansäuerte, erhielt ich nach Zusatz von $BaCl_2$ schon nach halbstündigem Erwärmen einen nicht ganz unbedeutenden Niederschlag. Es veranlasste mich dies, die Menge der Schwefelsäure in dem genannten Präparate zu bestimmen, und ich erhielt dabei aus 10 gr. des Hydrates 0,007 gr. $BaSO_4$. Da wir nun wissen, dass 100 cbcm. Salzsäure von 3% 0,006 gr. $BaSO_4$ in Lösung halten, ist es leicht ersichtlich, dass bei einer

---

[1]) Eine Gewichtsabnahme kann doch, selbst wenn der Niederschlag rein ist, in dem Falle stattfinden, dass das Bariumsulfat vor dem Glühen nicht ganz sorgfältig von dem Filtrum getrennt worden ist. Bei der Verbrennung des letzteren, die natürlich gesondert geschieht, kann in diesem Falle eine theilweise Reduction des auf dem Filtrum zurückgebliebenen Sulfates zu Schwefelbarium stattfinden, was einen Verlust bedingt. Durch sorgfältige Arbeit kann doch ein solcher Verlust leicht vermieden werden.

Prüfung, wo einige gr. in Wasser gelöst werden und die Lösung mit einer unbekannten Menge Salzsäure ziemlich stark angesäuert wird, die Verunreinigung mit Schwefelsäure leicht übersehen werden könnte. Dieses Beispiel zeigt also, dass die recht bedeutende Löslichkeit des Bariumsulfates in Salzsäure auch bei der Prüfung der Reagentien nicht vernachlässigt werden darf. Diese Prüfung soll stets mit genau bekannten Mengen sämmtlicher dabei verwendeten Stoffe geschehen.

Mit Ausnahme von dem Natriumcarbonate konnte ich alle die erforderlichen Reagentien im Handel von erwünschter Reinheit erhalten[1]). Das Natriumcarbonat war dagegen nie ganz frei von Schwefelsäure, wenn auch die Menge davon bisweilen eine so kleine war, dass sie leicht hätte übersehen werden können. Ich reinigte mir desshalb das Carbonat durch Lösung in Wasser und fractionirte Fällung mit Alkohol. Das Präparat war so rein, dass ich in 20 gr. des wasserfreien Salzes keine Spur von Schwefelsäure nachweisen konnte.

Nach diesen Bemerkungen von mehr allgemeiner Art gehe ich nun zur Besprechung der von mir geprüften Methoden über. Diese Methoden waren folgende:

Nr. 1. Die Methode von Liebig. Diese Methode ist in zweifacher Weise von mir versucht worden. Das ältere Liebig'sche Verfahren ist bekanntlich folgendes. Das reine Kalihydrat wird mit $^1/_8$ Salpeter nach Zusatz von einigen Tropfen Wasser zum Schmelzen erhitzt. Nach dem Erkalten bringt man die Substanz in den Tiegel, erhitzt wieder vorsichtig bis zum Schmelzen, rührt dabei mit einem Spatel um und erhitzt dann allmählich weiter bis die Masse möglichst weiss geworden ist. Wenn nöthig wird dabei gegen das Ende der Verbrennung noch etwas Salpeter zugesetzt.

Die, soweit ich aus den in der Litteratur vorkommenden Angaben ersehen kann, nunmehr allgemein gebrauchte Modification dieser Methode besteht darin, dass die Substanz mit

---

[1]) Das Kalihydrat (alkoholgereinigtes) war doch fast immer schwefelhaltig.

einem Gemenge von wasserfreiem, kohlensaurem Natron und Salpeter vermischt, allmählich in sehr kleinen Portionen in ein schmelzendes Gemenge von Aetzkali und Salpeter eingetragen und verbrannt wird.

Diese zwei Modificationen der Liebig'schen Methode habe ich geprüft und mit einander verglichen. Bei der folgenden Mittheilung der Analysen nenne ich das ältere Verfahren Methode 1a und die neuere Modification 1b. Da ich später in den verschiedenen Analysen überall die zu jeder Bestimmung verwendete Menge von Kalihydrat, Salpeter u. s. w. angeben werde, habe ich hier nichts Weiteres über diese Methode zu sagen. Die Verbrennung wurde in allen meinen Analysen in einem Silbertiegel von 7 1/2 cm. Höhe und 6 cm. Diameter ausgeführt.

Nr. 2. Meine Modification der Liebig'schen Methode. Diese Modification besteht darin, dass die Hauptmasse des Eiweisses erst im Wasserbade mit Salpetersäure so weit oxidirt wird, dass nur ein unbedeutender, der Hauptmasse nach kristallinischer Rückstand übrig bleibt. Dieser Rückstand wird in Wasser mit Hülfe von überschüssigem kohlensaurem Natron gelöst, die Lösung in dem Silbertiegel zur Trockne verdunstet und der scharf getrocknete Rückstand durch langsames Erhitzen verbrannt. Ueber diese Methode habe ich schon in meinem Aufsatze «Zur Frage, ob das Casein ein einheitlicher Stoff sei?» (diese Zeitschrift, Bd. VII) ziemlich ausführlich berichtet und ich will hier nur Folgendes zufügen: Bei Bestimmungen des Schwefels in Eiweissstoffen verwende ich gewöhnlich eine Salpetersäure von 25%, während ich bei meinen Bestimmungen von diesem Elemente in dem Leime mit einer solchen Säure nicht zum Ziele kam. Wie in einigen anderen Hinsichten sehr interessante Unterschiede zwischen dem Leime und den Eiweissstoffen obwalten, so besteht auch darin ein Unterschied zwischen beiden, dass der Leim eine ungemein grössere Resistenz gegen die Einwirkung der Salpetersäure zeigt. Beim Behandeln des Leims im Wasserbade mit Salpetersäure von 25% erhielt ich keine krystallinischen Zersetzungsprodukte, sondern nur einen gelb-

lichen, syrupösen Rückstand. Bei Zusatz von rauchender Salpetersäure wurde der Leim dagegen ebenso gut wie das Eiweiss zersetzt, und der Rückstand bestand nun überwiegend aus krystallinischen Produkten (deren Natur ich nicht ermittelt habe).

Bei Verarbeitung des Leimes nach dieser Methode muss also eine starke Salpetersäure verwendet werden, und die rauchende Säure leistet hierbei gute Dieste. Selbstverständlich kann auch zur Zerstörung der Eiweissstoffe eine stärkere Säure verwendet werden; nie aber soll man die Substanz — mag sie Eiweiss oder Leim sein — direct mit rauchender Salpetersäure behandeln, denn da wird die Reaction zu heftig; die Temperatur kann so hoch steigen, dass die Masse theilweise verkohlt und Verluste stattfinden. Man soll darum die Substanz in Salpetersäure von 25% lösen, und erst nach erfolgter Lösung die rauchende Säure zusetzen.

Der im Wasserbade getrocknete Rückstand wird mit Hülfe von kohlensaurem Natron in Wasser gelöst, und dabei kommen als Regel auf etwa 1 gr. der in Arbeit genommenen Substanz etwa 2 gr. kohlensaures Natron (als wasserfreies Salz berechnet). Der im Tiegel im Wasserbade getrocknete Rückstand wird bei 150—170° im Luftbade getrocknet und dann durch vorsichtiges Erhitzen verbrannt. Um die Verbrennung zu beschleunigen und vollständig zu machen, setze ich dabei sehr fein gepulverten Salpeter in sehr kleinen Portionen allmälig zu, und die Masse nimmt dann ohne irgend welche Feuererscheinung oder Verpuffung rasch eine weissliche Farbe an. Wenn man dagegen, wie ich es früher machte, die alkalische Lösung vor dem Eintrocknen mit etwas Salpeter versetzt, kann die Verbrennung bisweilen etwas zu rasch von Statten gehen und es können Verluste stattfinden. Die Schmelze wird wie gewöhnlich behandelt.

Nr. 3. Die Methode von Loew[1]). Diese Methode, welche eine Modification des von Piria und Schiff[2]) zur

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 31, S. 394.

[2]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 195, S. 293.

Bestimmung der Halogene angegebenen Verfahrens ist, besteht darin, dass die Substanz mit dem 20fachen Gewichte eines Gemisches von 1 Theil Kaliumchlorat und 4 Theilen Natriumcarbonat verbrannt wird. Die Mischung wird in einen Platintiegel gebracht, eine Platinschale darüber gestülpt, angedrückt und umgekehrt. Nachdem in den Raum zwischen dem Tiegel und der Schale noch etwas von dem Salzgemische gegeben worden ist, wird langsam erhitzt und zuletzt geglüht. Ich habe die Angaben Loew's genau gefolgt und ich habe das Gemenge nur mit der grössten Vorsicht erwärmt. Trotzdem fand ich doch die Handhabung dieser Methode recht schwierig, und ich konnte nicht verhindern, dass die Verbrennung bisweilen so plötzlich auf ein Mal durch die ganze Masse ging, dass kleine Verluste stattfanden. Ich will hiermit nicht gesagt haben, dass nicht auch diese Methode bei grösserer Uebung und in den Händen anderer Forscher regelmässig gute Resultate liefern könne; ich will hiermit eigentlich nur sagen, dass ich bei ihrer Anwendung wiederholt missglückte, und dass dies der Grund ist, warum ich in diesem Aufsatze nur wenige, nach dieser Methode ausgeführten, gut gelungenen Analysen mittheilen kann.

Nr. 4. Die Methode von Claësson. Diese Methode, welche theils in schwedischer[1]) und theils auch in deutscher Sprache[2]) veröffentlicht worden ist, besteht bekanntlich darin, dass die fragliche Substanz in einem Platinschiffchen in einem Gemenge von Sauerstoff und Stickoxyd, also eigentlich in einem Strome von Untersalpetersäure verbrannt wird. Ich habe genau nach den Angaben von Claësson gearbeitet, ich habe seinen Vorschriften nichts zuzufügen, und ich kann desshalb einfach auf seine Abhandlungen verweisen.

Nr. 5. Die Mixter-Sauer'sche Methode. Diese Methode wurde von mir in der Weise, wie sie in dem Heft 4 der Zeitschrift für analytische Chemie, Jahrgang 22, S. 581

---

[1]) Öfversigt of kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar 1880, Nr. 5, Stockholm.

[2]) Fresenius Zeitschrift 1883, Bd. 22, S. 177.

beschrieben worden ist, verwendet. Ich benutzte also stets 2 U-förmige Röhren, von denen die erste am horizontalen Theile 3 kugelförmige Erweiterungen und die zweite nur eine solche hatte. Hierzu kam dann noch die grosse Flasche. Die Verbrennungsprodukte wurden in Bromsalzsäure aufgesammelt und in jeder Röhre fanden sich ausserdem noch ein paar Tropfen Brom. In allem Wesentlichen folgte ich den Vorschriften von Mixter und Sauer und änderte das Verfahren nur in den folgenden 2 Hinsichten ein wenig ab. Ich führte in den eingeengten Theil des Verbrennungsrohres eine, aus dicht zusammengerolltem Platindrahtnetz hergestellte Spirale, hinein, weil dadurch eine vollständige Verbrennung wesentlich erleichtert wird, und weiter führte ich immer in das gegen die eingeengte Stelle des Verbrennungsrohres ziehende Ende des inneren Glasrohres ein aus einem zusammengerollten, dünnen Platinbleche hergestelltes Platinrohr hinein. Dies geschah in der Absicht, ein Zusammenschmelzen oder eine zu starke Verengung der Mündung dieses Rohres zu verhindern, denn es ereignete sich einmal, dass eine Analyse durch Zusammenschmelzung der Rohrmündung verunglückte.

Nach diesen Bemerkungen über die von mir geprüften Methoden gehe ich zu den Analysen über, und ich bemerke dabei, dass alle Zahlen auf die als aschefrei berechnete Substanz sich beziehen, und dass die Substanz stets bei 110—115° C. getrocknet wurde.

Casein I. Dieses Casein war nach der Methode von Radenhausen & Danilewsky, also durch Fällung der mit Wasser verdünnten Milch mit ein wenig Salzsäure, Auflösung des Niederschlages mit Hülfe von möglichst wenig Ammoniak, Filtration, neue Fällung mit Salzsäure, Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether, dargestellt worden. Der Gehalt an Asche war 0,3%.

Methode 1a.

1,145 gr. Substanz mit 12 gr. Kalihydrat und 1,5 gr. Salpeter lieferten 0,0645 gr. $BaSO_4$ = 0,773% S.

Methode 1b.

a) 1,2061 gr. Substanz, mit 1,5 gr. wasserfreiem Natriumcarbonat und 0,7 gr. Salpeter vermischt, wurden allmählich in ein schmelzendes Gemenge von 5 gr. Kalihydrat und 3 gr. Salpeter eingetragen. Es wurden gefunden 0,0591 gr. $BaSO_4$ = 0,672% S.

b) 1,131 gr. Substanz + 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Es wurden gefunden 0,0549 gr. $BaSO_4$ = 0,667% S.

Methode 2.

a) 2,184 gr. Substanz. Nach der Zerstörung mit Salpetersäure im Wasserbade wurde mit 2 gr. Soda und 0,5 gr. Salpeter eingetrocknet. Es wurden gefunden 0,127 gr. $BaSO_4$ = 0,798% S.

b) 2,8991 gr. Substanz. Nach der Zerstörung mit Salpetersäure mit 3 gr. Soda und 1 gr. Salpeter eingetrocknet. Gefunden 0,1666 gr. $BaSO_4$ = 0,789% S.

Methode 3.

0,870 gr. Substanz mit 20 gr. des Gemenges von Soda und Kaliumchlorat. Gefunden 0,046 gr. $BaSO_4$ = 0,726% S.

Methode 4.

1,039 gr. Substanz lieferten 0,053 gr. $BaSO_4$ = 0,701% S. Diese Zahl ist doch zu niedrig, weil durch einen Unfall bei der Bestimmung ein kleiner Theil des Bariumsulfates verloren gieng. Da ich zu einer neuen Bestimmung nach der Methode Claësson's keine genügende Menge von diesem Casein hatte, habe ich doch diese Analyse, wenn sie auch mit einem Fehler behaftet ist, nicht ganz weglassen wollen.

Methode 5.

1,1092 gr. Casein lieferten 0,063 gr. $BaSO_4$ = 0,780% S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein I.

Methode:	1a	1b	2	3	4	5
	—	0,672	0,798	—	—	—
	0,773	0,667	0,789	0,726	(0,701)	0,780
Mittel:	0,773%;	0,670%;	0,794%;	0,726%;	(0,701%);	0,780% S.

Casein II. Dieses Präparat war nach meiner Methode durch 3maliges Fällen mit Essigsäure dargestellt worden. Der Gehalt an Asche war 0,21%.

Methode 1a.

1,0329 gr. Substanz, mit 11 gr. Kalihydrat und 1,3 gr. Salpeter geschmolzen, lieferten 0,0583 gr. $BaSO_4$ = 0,775% S.

Methode 1b.

a) 1,2817 gr. Substanz mit 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Salpeter und 5 gr. Kalihydrat. Gefunden 0,0558 gr. $BaSO_4$ = 0,598% S.

b) 1,1688 gr. Substanz mit 1 gr. Soda und 0,5 gr. Salpeter. Im Tiegel 7 gr. Kalihydrat und 3,5 gr. Salpeter. Gefunden 0,0526 gr. $BaSO_4$ = 0,618 % S.

Methode 2.

1,5505 gr. Substanz. Nach der Zerstörung mit Salpetersäure Zusatz von 2,5 gr. Soda. Salpeterzusatz erst bei der Verbrennung. Gefunden 0,0878 gr. $BaSO_4$ = 0,778 % S.

Methode 3.

0,940 gr. Substanz mit 20 gr. des Gemenges von Soda und Kaliumchlorat. Gefunden 0,050 gr. $BaSO_4$ = 0,731 % S.

Methode 4.

0,984 gr. Substanz lieferten 0,0522 gr. $BaSO_4$ = 0,729 % S.

Methode 5.

1,1355 gr. Substanz lieferten 0,0625 gr. $BaSO_4$ = 0,747 % S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein II.

Methode:	1a	1b	2	3	4	5
	—	0,598	—	—	—	—
	0,775	0,618	0,778	0,731	0,729	0,747
Mittel:	0,775 %;	0,608 %;	0,778 %;	0,731 %,	0,729 %;	0,747 % S.

Casein III. Dieses Präparat war nach meiner Methode durch 4 maliges Fällen mit Essigsäure dargestellt. Gehalt an Asche 0,109 %.

Methode 1a.

a) 1,0865 gr. Substanz mit 12 gr. Kalihydrat und 1,5 gr. Salpeter lieferten 0,060 gr. $BaSO_4$ = 0,758 % S.

b) 1,2493 gr. Substanz mit 12 gr. Kalihydrat und 1,5 gr. Salpeter lieferten 0,070 gr. $BaSO_4$ = 0,769 % S.

Methode 1b.

a) 1,2588 gr. Substanz mit 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 8 gr. Kalihydrat und 3 gr. Salpeter. Gefunden 0,0576 gr. $BaSO_4$ = 0,628 % S.

b) 1,2875 gr. Substanz mit 1,5 gr. Soda und 0,7 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden 0,0626 gr. $BaSO_4$ = 0,667 % S.

Methode 2.

2,5492 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 2 gr. Soda. Zuzatz von Salpeter erst bei dem Verbrennen. Gefunden 0,1438 gr. $BaSO_4$ = 0,774 % S.

Methode 3.

1,0624 gr. Substanz mit 20 gr. des Gemenges von Soda und Kaliumchlorat. Gefunden 0,0564 gr. $BaSO_4$ = 0729 % S.

Methode 4.

0,918 gr. Substanz lieferten 0,051 gr. $BaSO_4$ = 0,763% S.

Methode 5.

1,0785 gr. Substanz lieferten 0.0565 gr. $BaSO_4$ = 0,730 % S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein III.

Methode:	1a	1b	2	3	4	5
	0,758	0,628	—	—	—	—
	0,769	0,667	0,774	0,729	0,763	0,730
Mittel:	0,764%;	0,648%;	0,774%;	0,729%;	0,763%;	0,730% S.

Casein IV. Dieses Casein war durch 2maliges Fällen mit Chlorwasserstoffsäure nach der Methode von Radenhausen und Danilewsky dargestellt worden. Gehalt an Asche 0,25%.

Methode 1a.

1.1535 gr. Substanz mit 10 gr. Kalihydrat und 1,2 gr. Salpeter lieferten 0,065 gr. $BaSO_4$ = 0,774% S.

Methode 1b.

1,5767 gr. Substanz mit 2 gr Soda und 1 gr. Salpeter. Im Tiegel 8 gr. Kalihydrat und 2 gr. Salpeter. Gefunden 0,0796 gr. $BaSO_4$ = 0,681% S.

Methode 2.

2,0568 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 3 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden 0,1159 gr. $BaSO_4$ = 0,774% S.

Methode 4.

a) 1,159 gr. Substanz lieferten 0,0644 gr. $BaSO_4$ = 0,763% S.
b) 0,9055 gr. Substanz lieferten 0,0505 gr. $BaSO_4$ = 0.766% S.

Methode 5.

1,058 gr. Substanz lieferten 0,0585 gr. $BaSO_4$ = 0,759% S.

Zusammenstellung der Bestimmungen im Casein IV.

Methode:	1a	1b	2	3	4	5
	—	—	—	—	0,763	—
	0,774	0,681	0,774	—	0,766	0,759
Mittel:	0,774%;	0,681%;	0,774%;	—	0,765%;	0,759% S.

Nachdem ich nun sämmtliche von mir ausgeführten, neuen Schwefelbestimmungen in dem Casein mitgetheilt habe, lasse ich hier eine tabellarische Uebersicht der Analysen folgen.

Uebersichtstabelle.

Methode.	1a	1b	2	3	4	5
Casein I.	0,773	0,672 0,667	0,798 0,789	0,726	(0,701[1])	0,780
Casein II.	0,775	0,598 0,618	0,778	0,731	0,729	0,747
Casein III.	0,758 0,769	0,628 0,667	0,774	0,729	0,763	0,730
Casein IV.	0,774	0,681	0,774	—	0,763 0,766	0,759
Mittel:	0,770%	0,647%	0,783%	0,729%	0,755%	0,754%

Ein Blick auf diese Tabelle zeigt sogleich, dass die Methode 1^b — also das gewöhnliche Verfahren, wo die mit Soda und Salpeter gemischte Substanz in ein schmelzendes Gemenge von Kalihydrat und Salpeter eingetragen wird — überall niedrigere und zwar um etwa 0,1% niedrigere Zahlen als die übrigen Methoden geliefert hat. Zu demselben Resultate kam ich auch bei meinen älteren Bestimmungen, wo doch nur die Methoden 1^b und 2 mit einander verglichen wurden, und wenn ich nicht irre dürfte man wohl auch ziemlich einig darüber sein, dass bei Anwendung von diesem Verfahren Verluste kaum zu vermeiden sind. Will man aus den obigen Zahlen Mittelwerthe für den Schwefelgehalt des Caseins ziehen, so muss man wohl desshalb auch die 7 Bestimmungen, welche nach der Methode 1^b ausgeführt worden sind, ausser Rechnung bringen, und dasselbe muss auch von der Bestimmung nach der Methode 4 im Casein I gelten, weil diese Bestimmung mit einem Fehler behaftet ist.

Es bleiben also nur 21 Schwefelbestimmungen in den 4 Caseinpräparaten übrig, und diese gaben als Mittelwerth für das Casein 0,758% S. Es ist dies genau dieselbe Zahl,

[1]) Diese Zahl ist, wie oben bemerkt, mit einem Fehler behaftet und ist desshalb auch bei der Berechnung der Mittelzahlen nicht mitgerechnet worden.

die ich als Mittel aus meinen früheren Bestimmungen — wenn die 3 ersten Analysen, für deren Richtigkeit ich nicht einstehen konnte, abgerechnet werden — erhalten habe, und dies dürfte wohl also zeigen, dass auch diese Bestimmungen richtig waren.

In diesen 21 Bestimmungen habe ich als Maximum 0,798 % und als Minimum 0,726 % S. gefunden. Die Differenz beträgt also nur 0,072 %, was hier etwa 5 mgr. Bariumsulfat entspricht, und da es hier um Schwefelbestimmungen in verschiedenen Caseinpräparaten nach verschiedenen Methoden sich handelt, dürfte eine bessere Uebereinstimmung wohl schwerlich zu erwarten sein. Da man nun bei den Schwefelbestimmungen, wenn nur das Bariumsulfat sorgfältig gereinigt wird und die Reagentien ganz rein sind, eher etwas zu niedrige als zu hohe Werthe erhält, bin ich doch geneigt anzunehmen, dass die nach den Methoden 1[a] und 2 erhaltenen, etwas höheren Zahlen die richtigen sind, und dass dementsprechend das Casein gegen 0,8 %, etwa 0,78 %, Schwefel enthält. Dass ich in den neuen Bestimmungen nach meiner Methode, Nr. 2, im Allgemeinen ein wenig höhere Zahlen als in den älteren Analysen erhalten habe, liegt wohl daran, dass ich in meinen älteren Analysen die Schwefelsäure mit $BaCl_2$ aus einer Lösung, welche mehr Salzsäure enthielt, fällte und für das in der Lösung zurückgebliebene Bariumsulfat keine Correction machte.

In meinem früheren Aufsatze über diesen Gegenstand (diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 258 u. 259) habe ich im Ganzen zwölf Schwefelbestimmungen in acht verschiedenen Caseinpräparaten mitgetheilt. Unter diesen Bestimmungen findet man acht, gegen deren Zuverlässigkeit, so weit ich verstehe, nichts einzuwenden ist. Wenn man diese Analysen mitrechnet, habe ich also in 9 verschiedenen Caseinpräparaten, von denen einige durch Ausfällung mit Salzsäure und andere durch 2—10 maliges Ausfällen mit Essigsäure dargestellt worden waren, in 29 Bestimmungen nach fünf verschiedenen Methoden als Maximum 0,798 %, als Minimum 0,726 % und als Mittel 0,758 % Schwefel gefunden. Wenn man nun auch

diese Mittelzahl nicht gelten lassen will, sondern die nach den Methoden 1a und 2 erhaltenen, etwas höheren Zahlen 0,770% und 0,783% als richtiger betrachtet, so komme ich doch zu demselben Resultate wie früher und muss also, gegenüber den zwei Analysen Danilewsky's, welche für das Casein etwas mehr als 1% Schwefel ergeben hatten, meine früheren Angaben, deren zufolge der Schwefelgehalt des Caseins zwischen 0,7 und 0,8% liegen soll, als richtig bezeichnen.

Zu dem nun Gesagten will ich übrigens nur zufügen, dass meine Analysen nur auf ein möglichst sorgfältig gereinigtes, mit Säure aus der Milch gefälltes Casein sich beziehen, und zwar auf denjenigen Eiweissstoff der Milch, welchen man seit Alters als Casein bezeichnet hat und welcher vor Allem dadurch gekennzeichnet ist, dass er nach Zusatz von Lab bei Gegenwart von genügenden Mengen Calciumphosphat zu Käse gerinnt. Ich bemerke dies einerseits mit Rücksicht darauf, dass ein nicht mit gebührender Sorgfalt gereinigtes Casein von einer anderen, etwas schwefelreicheren Proteinsubstanz der Milch verunreinigt sein kann, wodurch der Schwefelgehalt des Casein vielleicht ein wenig erhöht wird, und andererseits mit Rücksicht auf einige neuere Arbeiten, in welchen als Casein Stoffe bezeichnet werden, die mit dem gewöhnlichen Casein fast nichts anderes als die gewöhnlichen Eiweissreaktionen gemeinsam haben.

Nach meinen Analysen enthält also das Casein nur gegen 0,8% Schwefel — wahrscheinlich etwa 0,78%. In welchem Verhältnisse dieser Schwefel als oxydirter und als unoxydirter in das Casein eingeht, darüber kann ich noch nichts Sicheres sagen, hoffe aber ein anderes Mal zu dieser Frage zurückkommen zu können. Dass die Menge des unoxydirten Schwefels in dem Casein nur eine geringe sein kann, dafür spricht schon die regelmässig nur sehr schwache Reaction, welche das Casein beim Erwärmen mit Kalilauge und Bleiacetat giebt, und hierfür spricht auch die Analyse von Fleitmann. Dieser Forscher (Bestimmungen des Verhältnisses, in welchem der Schwefel in seinen zwei ver-

schiedenen Formen etc. Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 66, S. 380) fand nämlich in dem Casein nur 0,07% unoxydirten Schwefel.

Bevor ich die Frage von dem Schwefelgehalte des Caseins verlasse, muss ich mit einigen Worten meine Stellung zu der Frage über die Bedeutung des Schwefels in den Eiweissstoffen klar machen.

Radenhausen und Danilewsky hatten behauptet[1]), dass ein von ihnen Caseoprotalbin genannter Stoff, wenn man ihn in Kalkwasser löst und die Lösung bei Gegenwart von etwas Alkohol mit Phosphorsäure versetzt, in Caseoalbumin übergeführt wird. Ich habe diese Behauptung schon aus dem Grunde als eine ganz unrichtige bezeichnet, weil das Caseoalbumin nach den genannten Forschern reicher an Schwefel als das Caseoprotalbin sein soll und weil es doch nicht möglich ist, einen schwefelärmeren Stoff nur durch Auflösen in Kalkwasser und Zusatz von Phosphorsäure in einen schwefelreicheren überzuführen.

Um die Bedeutung dieser Einwendung zu entkräftigen, hat Danilewsky in seinem Aufsatze «Zur vorläufigen Abwehr» erklärt, dass die Natur und Bedeutung des Schwefels in den Eiweisskörpern mir nicht genug bekannt ist, und er sucht darum auch mich darüber zu belehren, dass der nicht oxydirte Schwefel für die Existenz gewisser Eiweissstoffe «nicht wesentlich nothwendig» sein soll.

Dass die Natur und Bedeutung des Schwefels in den Eiweisskörpern mir nicht genug bekannt ist, das gestehe ich ausserordentlich gern, und ich befinde mich in dieser Hinsicht leider in derselben Lage wie alle anderen Chemiker, denn wir müssen doch wohl alle gestehen, dass die Constitution der Eiweissstoffe uns lange nicht genug bekannt ist. Ebenso offen muss ich doch gestehen, dass ich durch die Versuche und Schlussfolgerungen Danilewsky's keine grössere Klarkeit in dieser Frage gewonnen habe; und da ich

[1]) «Untersuchungen über die Eiweissstoffe der Milch» in Forschungen auf dem Gebiete der Viehhaltung und ihrer Erzeugnisse. Heft 9, Bremen 1880.

unter keinen Umständen den Anschauungen Danilewsky's über die Bedeutung des Schwefels in den Eiweissstoffen mich anschliessen kann, bin ich genöthigt, meine Stellung zu dieser Frage hier klar zu machen.

Danilewsky glaubt bewiesen zu haben, dass der Grundprocess bei der Entstehung der Protalbstoffe (die Alkalialbuminate) aus dem Albumin durch Alkalieinwirkung in der Abspaltung von rein anorganischen Elementen — von Calcium, Magnesium und Phosphorsäure — bestehe, während die Abspaltung von einem Theile des sämmtlichen Schwefels ein wegen der Laugenwirkung unvermeidlicher Nebenprocess sein soll. «Die Abspaltung des Schwefels», so sagt er nämlich, «ist ganz und gar ein Nebenprocess, und der abgespaltene Schwefel ist auch für die Existenz des Proteinmoleküls nicht nöthig, denn das entstandene Protalbin kann ohne Schwefelzusatz aber unbedingt mit Aufnahme von Calcium und Phosphorsäure in Albumin zurückgeführt werden». Weiter unten heisst es: «Bei der Rückbildung der niederen Protalbstoffe in Protalbin wird kein Schwefel eingeführt; aber die Umwandlung ist nichtsdestoweniger ganz sicher, was durch Lösungsverhältnisse, durch die Veränderungen der Farbenreactionen und durch das Verhalten des Produktes zu Albumin bewiesen wird». Zuletzt sagt Danilewsky auch, «da die niederen Protalbstoffe constant in Mittel 1,08 bis 1,1% S. enthalten und mit derselben Schwefelmenge durch die intermediären Stufen in Albumin übergeführt werden können, so behaupte ich, dass in dem Eialbumin bis zu 0,9% seines Schwefels (d. h. etwas weniger als die Hälfte seines Schwefels) welcher eben sehr leicht durch verdünnte Laugen eliminirt werden kann, für seine Existenz nicht wesentlich nothwendig ist».

Ich kann diese Worte nicht anders als so verstehen, dass Danilewsky wirklich einen Theil des in dem Eiweissmoleküle enthaltenen Schwefels als für die Existenz dieses Eiweissmolekuls nicht wesentlich nothwendig betrachtet, und dass er wirklich daran glaubt, dass der aus einem Alkalialbuminate mit 0,9% Schwefel nur durch Einführung von

Calcium und Phosphorsäure in das Molekul erhaltene Stoff wirklich mit einem Eiweissstoffe von 1,9% Schwefel identisch sein kann.

Für mich ist eine solche Annahme eine ganz unmögliche; und wenn Danilewsky behauptet, dass die Umwandlung der (schwefelärmeren) Protalbstoffe in (schwefelreicheres) Protalbin, trotzdem dass kein Schwefel eingeführt wird, nichtsdestoweniger ganz sicher ist, was durch die Lösungsverhältnisse, die Veränderungen der Farbenreactionen und das Verhalten des Produktes zu Albumin bewiesen wird, so kann ich meinestheils einer solchen Schlussfolgerung nicht beipflichten. Ich muss vielmehr aus diesen Beobachtungen einen ganz anderen Schluss ziehen, den nämlich, dass hierbei keine Rückbildung zu Albumin stattgefunden hat, und dass den von Danilewsky als beweisend betrachteten Reactionen und Lösungsverhältnissen keine grosse Beweiskraft zugemessen werden kann. Ich würde wenigstens, wenn ich bei dem Versuche ein Albuminat in das entsprechende Albumin zurückzuverwandeln, einen Stoff mit z. B. 1,2% Schwefel erhalten hatte, während der Schwefelgehalt des fraglichen Albumins etwa 1,8% beträgt, nie die Annahme gewagt haben, dass hier eine Rückbildung stattgefunden hätte, wenn auch die übrigen Reactionen noch so übereinstimmend gewesen wären. Ich würde hierin nur einen neuen Beweis für die bekannte Thatsache gesehen haben, dass Eiweissstoffe, welche in mehreren Hinsichten einander ausserordentlich ähnlich sein können, doch lange nicht identisch sind.

Gerade der Umstand, dass bei der Umwandlung der Eiweissstoffe in Alkalialbuminate mit Hülfe von verdünnter Alkalilauge Schwefel (und wie ich mehrmals beobachtet habe auch Stickstoff) sich abspaltet, ist auch immer für mich ein sehr wichtiger Grund gewesen, die Angaben Danilewsky's über Rückbildung von Albumin aus Albuminaten als irrig zu betrachten.

Danilewsky erinnert in seinem Aufsatze an die bekannten Untersuchungen von Fleitmann, welche zeigten, dass der Schwefel der Eiweisskörper wegen seiner Stellung

im Molekül sich verschiedenartig gegen Reagentien verhält, indem ein Theil des Schwefels leicht Schwefelmetall bildet, ein anderer dagegen nicht. Dieses verschiedene Verhalten, sagt nun Danilewsky, kann nur durch die Annahme, dass der erste Schwefelantheil nicht, der zweite aber direct mit Sauerstoff verbunden im Molekul sich vorfindet, erklärt werden, und er betont darauf mit Recht, dass hieraus auch die Unrichtigkeit derjenigen Eiweissformeln, welche auf Grund eines einzigen Schwefelatoms construirt sind, mit Nothwendigkeit hervorgeht; «denn zwei verschiedene Stellungen zwingen zu der Annahme von wenigstens zwei Schwefelatomen im Molekul». Man kann nun hier fragen: wenn ein bestimmter Eiweisskörper zwei Schwefelatome im Molekul enthält, wie ist es dann wohl denkbar, dass das eine Schwefelatom für die Existenz gerade dieses Eiweissstoffes nicht wesentlich nothwendig sein sollte, und wenn man aus dem Eiweissmoleküle mit Alkali dasjenige Schwefelatom, welches nicht direct mit dem Sauerstoff verbunden ist, abgespaltet hat, wie ist es dann wohl möglich anzunehmen, dass der durch Einführung von Calcium und Phosphorsäure in das Molekul entstandene, neue, nur 1 Schwefelatom enthaltende Eiweissstoff mit der Muttersubstanz, welche 2 Atome Schwefel enthält, identisch sein könne.

Mir scheint eine solche Annahme ganz unmöglich zu sein, und denjenigen Beobachtungen, durch welche Danilewsky diese behauptete Umwandlung der Alkalialbuminate (Protalbstoffe) in Albumin nur durch Aufnahme von Calcium und Phosphorsäure in das Molekül beweisen will, kann ich auch keine Beweiskraft zuerkennen. Ein schwefelärmeres Albuminat kann nach meiner Ansicht nie durch alleinige Aufnahme von Calcium und Phosphorsäure in die ursprüngliche, schwefelreichere Muttersubstanz übergeführt werden. Das neue Produkt kann der Muttersubstanz in vielen Beziehungen zum Verwechseln ähnlich sein, aber identisch mit ihr ist es gewiss nicht, denn es enthält weniger Schwefel; und der durch Alkali abspaltbare Theil des Schwefels ist etwas für die Constitution eines bestimmten Eiweissstoffes

wesentlich Nothwendiges. Dies ist jetzt wie früher meine Ansicht über die Natur und Bedeutung des Schwefels in den Eiweissstoffen.

Wie oben angedeutet, musste es von Interesse sein, die Brauchbarkeit der obigen von mir geprüften Methoden auch für die Bestimmung des Schwefels in anderen Proteinsubstanzen zu prüfen, und aus diesem Grunde habe ich auch nach dieser Methode einige Bestimmungen des Schwefels in Eieralbumin und Leim ausgeführt. Ich theile hier die Resultate dieser Bestimmungen mit.

Eieralbumin. Das zu den Analysen verwendete Albumin wurde auf folgende Weise dargestellt. Das mit Wasser ziemlich stark verdünnte Hühnereiweiss wurde mit Essigsäure genau neutralisirt und dann mit einem anhaltenden Kohlensäurestrome behandelt. Der hierbei sich ausscheidende Theil der Globuline wurde abfiltrirt, das Filtrat zum Sieden erhitzt und durch Zusatz von noch ein wenig Essigsäure coagulirt. Das coagulirte Eiweiss wurde darauf mit Wasser gewaschen und dann mit Alkohol und Aether behandelt. Das zu den Analysen verwendete Albumin war also kein ganz reines, sondern ein von Globulin etwas verunreinigtes Ovalbumin. Das Präparat, welches bei 110—115° C. getrocknet wurde, enthielt 0,559 % Asche.

Methode 1a.

1,0411 gr. Substanz mit 10,5 gr. Kalihydrat und 1,4 gr. Salpeter lieferten 0,1265 gr. $BaSO_4$ = 1,67 %.

Methode 1b.

a) 1,1892 gr. Substanz mit 2,5 gr. Soda und 0,6 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden: 0,13175 gr. $BaSO_4$ = 1,52 % S.

b) 1,0022 gr. Substanz mit 1 gr. Soda und 0,5 gr. Salpeter. Im Tiegel 10 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden: 0,1121 gr. $BaSO_4$ = 1,54 % S.

c) 0,967 gr. Substanz mit 1 gr. Soda und 1 gr. Salpeter. Im Tiegel 5 gr. Kalihydrat und 5 gr. Salpeter. Gefunden: 0,0946 gr. $BaSO_4$ = 1,34 % S.

Methode 2.

a) 2,283 gr. Substanz. Nach dem Behandeln mit Salpetersäure Zusatz von 4 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,2821 gr. $BaSO_4$ = 1,695% S.

b) 1,69 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 2 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,203 gr. $BaSO_4$ = 1,65% S.

Methode 4.

1,0266 gr. Substanz lieferten 0,121 gr. $BaSO_4$ = 1,62% S.

Methode 5.

1,1105 gr. Substanz lieferten 0,1274 gr. $BaSO_4$ = 1,58% S.

Zusammenstellung der Bestimmungen des Schwefels im Eieralbumin.

Methode:	1a	1b	2	4	5
	—	a) 1,52	—	—	—
	—	b) 1,54	1,70	—	—
	1,67	c) 1,34	1,65	1,62	1,58
Mittel:	1,67%	1,47%	1,67%	1,62%	1,58%.

Wie in dem Casein habe ich also auch in dem Eieralbumin nach der Methode 1b die niedrigsten Zahlen erhalten. Wenn ich von der Zahl 1,34%, die ich bei Anwendung von verhältnissmässig viel Salpeter erhielt, absehe und nur an die zwei übrigen Zahlen 1,32% und 1,54% mich halte, finde ich also nach der Methode 1b etwa 0,1% Schwefel weniger als nach den Methoden 1a und 2, welche hier wie in den Caseinanalysen die höchsten Zahlen gegeben haben. Die Methode 4 (von Claësson) gab die Zahl 1,62%, welche nur um etwa 0,05% von dem gefundenen Mittelwerthe 1,67% differirt, während die Methode 5 (von Mixter und Sauer) eine etwas niedrigere Zahl 1,58% gab.

Leim. Das analysirte Präparat war feine, käufliche Gelatina; es enthielt 1,74% Asche und wurde bei 110 bis 115° C. getrocknet.

Methode 1a.

1.855 gr. Substanz mit 12,5 gr. Kalihydrat und 1,6 gr. Salpeter lieferten 0,097 gr. $BaSO_4$ = 0,718% S.

Methode 1b.

1.3572 gr. Substanz mit 3 gr. Soda und 1,5 gr. Salpeter. Im Tiegel 10 gr. Kalihydrat und 2 gr. Salpeter. Gefunden: 0,0672 gr. $BaSO_4$ = 0,680% S.

Methode 2.

a) 1,8985 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 5 gr. Soda. Salpeterzusatz erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,1026 gr. $BaSO_4$ = 0,742% S.

b) 2,3498 gr. Substanz. Nach der Salpetersäurebehandlung Zusatz von 5 gr. Soda. Salpeter erst beim Verbrennen. Gefunden: 0,1286 gr. $BaSO_4$ = 0,751% S.

Methode 4.

0,957 gr. Substanz lieferten 0,052 gr. $BaSO_4$ = 0,746% S.

Methode 5.

a) 1,095 gr. Substanz lieferten 0,053 gr $BaSO_4$ = 0,665% S.

In diesem Falle war die Verbrennung doch offenbar eine unvollständige, und es gingen flüchtige Zersetzungsprodukte in geringer Menge in die Bromsalzsäure über.

b) 1,26 gr. Substanz lieferten 0,061 gr. $BaSO_4$ = 0,665% S.

Zusammenstellung der Schwefelbestimmungen im Leim.

Methode:	1a	1b	2	4	5
	—	—	a) 0,742	—	a) 0,665
	0,718	0,680	b) 0,751	0,746	b) 0,665
Mittel:	0,718%	0,680%	0,747%	0,746%	0,665% S.

In diesen Bestimmungen erhielt ich also die niedrigste Zahl nach der Methode 5, und es ist wohl nur ein Zufall gewesen, dass ich in den zwei Bestimmungen genau dieselbe Zahl 0,665% S erhielt, trotzdem dass in der Analyse a die Verbrennung nachweisbar eine nicht ganz vollständige war. In der Analyse b war die Verbrennung dagegen, so weit ich finden konnte, eine vollständige; und ich muss mich wohl also hier doch zu irgend einem anderen, mir unbekannten Fehler schuldig gemacht haben. Abgesehen von diesen zwei Bestimmungen gab also auch in dieser Versuchsreihe die Methode 1b die niedrigste Zahl. Die Methode 1a gab eine um etwa 0,03% niedrigere Zahl als die Methoden 2 und 4, welche dieselbe Zahl, resp. 0,742 und 0,746% S gaben.

Zuletzt möchte es mir vielleicht erlaubt sein, auf Grundlage der von mir bisher ausgeführten Schwefelbestimmungen meine Ansicht über den Werth der verschiedenen Methoden hier auszusprechen.

Die Methode 1b, d. h. das, wie ich glaube, ziemlich allgemein geübte Verfahren, die mit Soda und Salpeter ge-

mischte Substanz durch Eintragen in ein schmelzendes Gemenge von Kalihydrat und Salpeter zu verbrennen, scheint weniger gut als die anderen zu sein, in so ferne als sie regelmässig die niedrigsten Zahlen liefert. Der Grund hierzu liegt darin, dass bei dieser Methode Verluste wohl kaum zu vermeiden sind — mag man noch so sorgfältig arbeiten — denn da die Verbrennung nur auf der Oberfläche der Schmelze von Statten geht, ist es gar nicht möglich zu verhindern, dass ein Theil der Zersetzungsprodukte des Eiweisses der Verbrennung entgehen und in gasförmigem Zustande entweichen. Nach meiner Erfahrung ist diese Methode auch diejenige, die am wenigsten zu empfehlen ist; und wenn ich nicht irre, haben auch andere Forscher eine ähnliche Erfahrung gemacht.

Die Methode 1a scheint mir dagegen eine wirklich gute zu sein. Wenn man die Masse vorsichtig mit einer kleinen Flamme erwärmt, können Verluste durch Schäumen, Spritzen oder durch unvollständiges Verbrennen wohl kaum stattfinden. Ein Verpuffen findet nie statt, sondern die Masse wird nach und nach weniger dunkel, und die Verbrennung ist ziemlich bald — jedenfalls in weniger als zwei Stunden — beendet. Dabei ist es, wenn man mit einer kleinen Flamme erwärmt, nur im Anfange, wo die erste etwas heftigere Reaction stattfindet, und am Ende, wo die Hitze gesteigert werden muss, nothwendig, die Operation genau zu überwachen. Die einzigen Unannehmlichkeiten, welche nach meiner Erfahrung mit diesem Verfahren verknüpft sind, sind folgende: Man erhält eine sehr grosse Salzmasse, welche die weitere Arbeit etwas erschwert und welche die Anwendung dieser Methode zur Bestimmung des Schwefels in schwefelärmeren Substanzen, von welchen grössere Mengen in Arbeit genommen werden müssen, nicht wenig beeinträchtigt. Die andere Unannehmlichkeit liegt in der grossen Schwierigkeit, ein absolut schwefel- oder schwefelsäurefreies Kalihydrat zu erhalten. Namentlich habe ich noch nie ein absolut schwefelfreies Kalihydrat in Stangen erhalten können, und da, wie ich einige Male gesehen habe, die verschiedenen Stangen nicht

immer ganz denselben Schwefelgehalt haben, kommt man erst nach Umschmelzen des Hydrates mit einer quantitativen Bestimmung des Schwefels in dem Kalihydrate und einer daraus berechneten Correction zum Ziele.

Die Methode 2 hat mit der vorigen das gemeinsam, dass bei ihrer Anwendung und bei übrigens nicht zu nachlässiger Arbeit keine Verluste zu befürchten sind. Vor jener Methode hat sie den Vorzug, dass selbst wenn eine grosse Substanzmenge, 4—6 gr., zu einer Bestimmung genommen wird, nur eine kleine Salzmenge zuletzt in der Lösung enthalten ist. Der vorigen Methode gegenüber hat sie den Nachtheil, dass sie bedeutend umständlicher ist und viel mehr Zeit erfordert, wenn man auch während dieser Zeit die Arbeit fast gar nicht überwachen muss und folglich auch mit anderen Dingen sich beschäftigen kann. Für die meisten Fälle gebe ich also der alten Liebig'schen Methode den Vorzug und betrachte meine Methode als eine mehr passende nur für den Fall, dass von einer sehr schwefelarmen Substanz eine grössere Menge in Arbeit genommen werden muss.

Die Methode 3 ist nach meiner Erfahrung lange nicht so leicht ausführbar wie die Methode 1a und 2. Mehrere nach dieser 3. Methode von mir versuchten Schwefelbestimmungen verunglückten aus dem Grunde, dass es mir trotz aller Mühe doch nicht recht gut gelingen wollte, eine plötzliche Verbrennung in der ganzen Masse zu verhindern. Ich will damit nicht gesagt haben, dass nicht diese Methode in anderen Händen eine gute sein könne; ich führe nur einfach meine eigene Erfahrung an. Eine sehr grosse Unannehmlichkeit dieser Methode ist unter allen Umständen die colossale Menge von Salzen, die zuletzt in der Lösung erhalten wird und die es fast zu einer Unmöglichkeit macht, eine grössere Substanzmenge in Arbeit zu nehmen. Handelt es sich um sehr schwefelarme Substanzen, von welchen mehrere Gramm zu einer Verbrennung genommen werden müssen, scheint diese Methode desshalb auch nicht zu empfehlen sein.

Die Methode 4, von Claësson, ist eine ebenso elegante wie leicht ausführbare. Die Verbrennung geschieht ohne die

geringste Schwierigkeit und die Vollständigkeit dieser Verbrennung ist auch leicht zu controliren. Mit der folgenden hat diese Methode vor allen anderen den grossen Vorzug, dass man hier gar keine fremden Salze in der Lösung erhält. Die Methode liefert auch sehr gute Resultate; und wenn man hiergegen einwenden will, dass ich in dem Casein II nach dieser Methode gegen 0,05% Schwefel weniger als nach der Methode 1a und 2 erhielt, so will ich hierzu bemerken, dass diese Bestimmung die erste (nach den vorausgegangenen Uebungsanalysen) nach dieser Methode war. Selbst die beste Methode kann ja, bevor man die nöthigen Erfahrungen gemacht hat, weniger gute Resultate geben. In allen anderen Bestimmungen, sei es in dem Casein, dem Eieralbumin oder dem Leim hat diese Methode dieselben oder um nur 0,01% niedrigere Zahlen als die zwei anderen besten Methoden geliefert. Das einzige, was ich vielleicht gegen diese Methode einzuwenden hätte, würde das sein, dass — da die Verbrennung im Schiffchen geschehen muss — besonders von leichteren und mehr voluminösen Proteinstoffen keine grössere Menge zu der Verbrennung genommen werden kann. Für sehr schwefelarme Proteinsubstanzen dürfte diese Methode also vielleicht weniger passend sein; aber für andere Fälle kann ich sie unbedingt als eine ausgezeichnet gute empfehlen.

Die Methode 5 ist zweifelsohne auch eine gute, aber nach meiner Erfahrung steht sie doch in einigen Hinsichten der vorigen ein wenig nach. Die Handhabung dieser Methode ist weniger leicht und namentlich ist es schwierig, die Verbrennung so zu leiten, dass sie eine ganz vollständige wird. Auch ist es hier weniger leicht, die Vollständigkeit der Verbrennung genau zu kontroliren. Wegen dieser Schwierigkeiten finden auch bei Anwendung von dieser Methode Verluste leichter statt, und dementsprechend habe ich auch nach dieser Methode mehrere Male etwas niedrigere Zahlen erhalten. Mit der vorigen hat diese Methode den Vortheil gemeinsam, dass man keine fremden Salze in der Lösung hat, während sie, wie jene, für Schwefelbestimmungen in sehr schwefelarmen Substanzen nicht recht gut geeignet sein dürfte.

Die wichtige Frage, wie der nicht oxydirte und der an Sauerstoff gebundene Schwefel in den Proteinsubstanzen gesondert bestimmt werden könne, habe ich auch zum Gegenstand meiner Untersuchungen gemacht. Ich bin aber mit diesen Untersuchungen noch nicht so weit gekommen, dass ich über die erhaltenen Resultate jetzt berichten kann.

Ueber das Verhalten des Serumalbumins zu Säuren und Neutralsalzen.

Von

J. E. Johansson.

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie in Upsala.)
(Der Redaction zugegangen am 3. Januar 1885.)

Im seinem Aufsatze «Ueber die Anwendbarkeit des Magnesiumsulfates zur Trennung und quantitativen Bestimmung von Serumalbumin und Globulinen» (diese Zeitschrift, Bd. VIII) hat Prof. Hammarsten der grossen Resistenz des Serumalbumins gegen die Einwirkung von Säuren bei gleichzeitiger Gegenwart von Salzen Erwähnung gethan, und er hat daselbst auch die Mittheilung gemacht, dass dieses Verhalten des Serumalbumins als Ausgangspunkt für eine neue Methode zur Reindarstellung von diesem Eiweissstoffe benutzt werden könne. Durch Arbeiten anderer Art verhindert, selbst diese Frage weiter zu verfolgen, forderte er mich auf, das Verhalten des Serumalbumins zu Säuren und Neutralsalzen etwas eingehender zu studiren.

Mit dieser Aufgabe beschäftigt, hatte ich die Arbeit schon am Ende Mai d. v. J. so weit gebracht, dass ich meine Versuchsergebnisse der hiesigen medicinischen Gesellschaft vorlegen konnte. Bevor ich aber zur Veröffentlichung meiner Arbeit ging, war es doch nöthig, die einschlägige Litteratur durchzuforschen, und ich wurde dabei von Prof. Hammarsten auf eine vor mehreren Jahren erschienene Arbeit von Eichwald aufmerksam gemacht. In dieser Arbeit[1]) theilt der genannte Forscher mehrere Beobachtungen mit, welche

[1]) Beiträge zur Chemie der gewebbildenden Substanzen und ihrer Abkömmlinge, H. I, Berlin 1873.

die Resistenz des Serumalbumins gegen Säuren bei gleichzeitiger Anwesenheit von Neutralsalzen zeigen sollen. Es ist allerdings wahr, dass Eichwald, welcher mit noch paraglobulinhaltigem, mit NaCl nur halbgesättigtem Zehntelserum gearbeitet hat, die Resistenz des Serumalbumins gegen Säuren und Salzen nicht in ganz exakter Weise beweisen konnte; aber die Versuche sind trotzdem doch so überzeugend, dass über die Richtigkeit seiner Angaben kein Zweifel bestehen kann. Eichwald spricht sogar die Vermuthung aus, dass die Neutralsalze, indem sie das Albumin ausfällen, die Umwandlung desselben in Acidalbumin verzögern oder verhindern, und er hat auf seinen Beobachtungen eine neue Methode zur Reindarstellung des Serumalbumins gegründet. Diese Methode, welche wesentlich von der von Prof. Hammarsten angegebenen abweicht, dürfte doch zur Gewinnung von einem reinen Serumalbumin nicht geeignet sein.

Die Resistenz des Serumalbumins gegen Säuren und Neutralsalzen ist also, wie es scheint, zuerst von Eichwald beobachtet und demonstrirt worden. Ausser diesen Beobachtungen Eichwald's sind doch einige Beobachtungen über denselben Gegenstand auch von einem anderen Forscher veröffentlicht worden. Im Jahre 1881 hat nämlich F. Hofmeister in der Zeitschrift für analytische Chemie, Bd 20, S. 319, in einem Referate über die Arbeit Hammarsten's «Ueber das Paraglobulin» auch einige eigene Beobachtungen in allergrösster Kürze mitgetheilt. Diese Beobachtungen fallen im Wesentlichen mit denjenigen, welche Hammarsten in seiner letzten Arbeit veröffentlicht hat, zusammen. Hofmeister hatte nämlich gefunden, dass der aus einer mit $MgSO_4$ gesättigten Serumalbuminlösung durch Säurezusatz erzeugte Niederschlag nach nicht zu langem Stehen noch aus unverändertem Albumin besteht, und er hat dieses Verhaltens zur Darstellung globulinfreier Serumalbuminlösungen mit Vortheil sich bedient. Dass diese Angaben Hofmeister's von Hammarsten übersehen worden sind, liegt daran, dass sie nur beiläufig in einem Referate mitgetheilt und nicht in einer Originalabhandlung veröffentlicht wurden.

Die Resistenz des Serumalbumins gegen Säuren und Neutralsalzen ist also schon früher von anderen Forschern, erst von Eichwald und dann auch von Hofmeister, beobachtet worden. Dagegen sind meines Wissens bisher keine Versuche, welche diese Resistenz in exakter Weise zeigen, veröffentlicht worden, denn die Versuche von Eichwald lassen in dieser Hinsicht noch viel zu wünschen übrig, und Hofmeister hat in dem obenerwähnten Referate nur die Thatsache selbst in allergrösster Kürze, ohne irgend welche Versuche anzuführen, mitgetheilt. Die Angaben dieser Forscher scheinen übrigens auch von anderen übersehen worden zu sein, und so findet man z. B. noch in der letzten Auflage von Hoppe-Seyler's Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse (vom Jahre 1883) die bisher allgemein verbreitete Angabe, dass das Serumalbumin bei Gegenwart von Salzen schon von sehr kleinen Säuremengen in Acidalbumin übergeführt wird. Bei dieser Sachlage dürfte es wohl berechtigt sein, einige der von mir über diesen Gegenstand ausgeführten Versuche hier mitzutheilen.

Eine Umwandlung des Serumalbumins in Acidalbumin macht sich bekanntlich dadurch kund, dass die Lösung nunmehr bei Zusatz von Alkali zu neutraler Reaction gefällt wird. Ebenso wird aus einer solchen, neutralisirten Lösung durch Sättigung mit einem Neutralsalze (z. B. $MgSO_4$) das bei der Neutralisation vielleicht in Lösung gebliebene Albuminat vollständig gefällt, während die unveränderte Serumalbuminlösung bekanntlich dadurch nicht im Geringsten gefällt wird. Dasselbe Reagens ist auch bekanntlich ebenso gut anwendbar, wenn es um den Nachweis von etwa neugebildetem Globulin sich handelt, während bei dem ersten Verfahren — dem Neutralisiren — das neugebildete Globulin von dem bei der Neutralisation entstandenen Neutralsalze in Lösung gehalten werden kann.

Um eine etwaige Umwandlung des Serumalbumins in Acidalbuminat, resp. Globulin, nachweisen zu können, verfuhr ich aus diesem Grunde in der Weise, dass ich die Lösung des mit Säure allein, resp. mit Säure und Salz be-

handelten Serumalbumins theils neutralisirte, theils nach erfolgter Neutralisation mit $MgSO_4$ sättigte. Dabei prüfte ich natürlich auf dieselbe Weise zuerst die ursprüngliche Serumalbuminlösung, welche bei richtiger Darstellung von den genannten Reagentien gar nicht gefällt wurde.

Ich lasse hier zuerst drei Versuche folgen, welche das Verhalten des Serumalbumins zu Säuren verschiedener Stärke zeigen.

Versuch I. Eine Lösung von Serumalbumin von Rindsblut wurde theils mit Essigsäure, theils mit Salzsäure in den folgenden Verhältnissen versetzt. Die Serumalbuminlösung enthielt ursprünglich 1,62% Albumin, und die Stärke der zugesetzten Säure wurde stets so gewählt, dass die Verdünnung überall dieselbe war. Die fünf ersten Proben wurden alle bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Nr. 1. Mit 1% Essigsäure blieb während mehr als 1 Monat unverändert.
Nr. 2. Mit 2% Essigsäure ebenso.
Nr. 3. Mit 0,25% HCl ebenso.
Nr. 4. Mit 0,5% HCl. Eine theilweise Umwandlung in Acidalbuminat fand nach Verlauf von 16 Tagen statt.
Nr. 5. Mit 1% HCl. Dieselbe Umwandlung fand nach 8 Tagen statt.
Nr. 6. Mit 0,25% HCl. Diese Probe wurde bei 40° C. digerirt, wobei die Digestion täglich etwa 10 Stunden fortgesetzt wurde. Erst nach 14 Tagen war ein theilweiser Uebergang des Serumalbumins in Acidalbuminat bemerkbar.

Des Vergleichens halber wurde auch eine 7. Probe genommen, welche nicht mit Säure, sondern statt dessen mit Natronlauge bis zu 0,2% NaOH versetzt wurde. Hier war das Resultat ein ganz anderes, denn schon nach 2½ Stunden hatte in dieser Probe eine deutliche Umwandlung in Alkalialbuminat stattgefunden.

Während also das Serumalbumin bei Zimmertemperatur eine bedeutende Wiederstandsfähigkeit gegen verdünnte Essigsäure oder Salzsäure zeigt, wird es dagegen sehr rasch von selbst sehr verdünnter Natronlauge in Alkalialbuminat übergeführt. Bemerkenswerth ist es auch, dass selbst bei der Einwirkung von so kleinen Alkalimengen eine Abspaltung

nicht nur von Schwefel sondern auch von Stickstoff, und zwar als Ammoniak, stattfindet. Bei Einwirkung von stärkerer Alkalilauge, z. B. von 2 % NaOH, findet eine noch reichlichere Ammoniakentwickelung bei Zimmertemperatur statt, und diese gleichzeitige Abspaltung von Schwefel und Stickstoff bei der Entstehung des Alkalialbuminats, zeigt also, dass das Serumalbumin dabei einer tiefgreifenden Veränderung unterliegt.

Versuch II. Von einer Lösung, welche 1,456% aus Rindsblutserum dargestelltes Serumalbumin enthielt, wurden folgende drei Proben genommen und mit Salzsäure versetzt. Alle drei Proben wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Nr. 1. Mit 1% HCl. Theilweise Umwandlung in Acidalbuminat erst nach Verlauf von 8 Tagen.

Nr. 2. Mit 2% HCl. Theilweise Umwandlung in Acidalbuminat nach Verlauf von 24 Stunden.

Nr. 3. Mit 3% HCl. Acidalbuminatbildung schon innerhalb 5 Stunden.

Versuch III. Die Lösung enthielt 1,634% Serumalbumin (aus Rindsblutserum). Der Versuch wurde bei einer Temperatur, welche nur wenig um + 40° C. schwankte, ausgeführt, und im Allgemeinen wurden die Proben etwa 10 Stunden täglich bei dieser Temperatur erwärmt.

Nr. 1. Mit 0,25% HCl wurde innerhalb 1 Monat nicht verändert.

Nr. 2. Mit 0,5% HCl wurde nach 9 Tagen theilweise in Acidalbuminat umgewandelt.

Nr. 3. Mit 1,0% HCl }
Nr. 4. Mit 2,0% HCl } Beide Proben wurden erst nach Verlauf von 3 Stunden beobachtet und es enthielten beide dann ziemlich grosse Mengen von Acidalbuminat.

Wie man aus dem Obigen ersieht, geht also, wie zu erwarten war, die Umwandlung in Acidalbuminat mit wachsenden Säuremengen, wie auch mit steigender Temperatur rascher von Statten. Bei Zimmertemperatur und bei einem Gehalte von 1—2% Essigsäure, resp. 0,25% Chlorwasserstoffsäure, kann doch das Serumalbumin während mehr als einen Monat unverändert bleiben, was wohl als eine grosse Wiederstandsfähigkeit gegen die Einwirkung von Säuren betrachtet werden kann.

Die bisher mitgetheilten Versuche beziehen sich nur auf solche Serumalbuminlösungen, welche durch anhaltende Dialyse von Salzen oder Mineralbestandtheilen im Allgemeinen möglichst sorgfältig befreit worden waren, und ich werde nun auch ein paar Versuche mittheilen, welche die Resistenz des Serumalbumins gegen die combinirte Wirkung von Säuren und Salzen zeigen werden.

Versuch IV. Rindsblutserum wurde mit $MgSO_4$ bei etwa + 30° C. gesättigt und bei dieser Temperatur filtrirt. Beim Erkalten schied sich eine reichliche Menge des Magnesiumsulfats wieder aus, und das davon getrennte Filtrat wurde zum Versuche angewendet. Von dem Filtrate wurden vier gleich grosse Proben abgemessen, von denen zwei, a und a' mit 0,5% und zwei andere, b und b', mit 1% Essigsäure versetzt wurden. Es traten dabei in allen Proben sogleich reichliche Niederschläge auf. Von diesen Proben wurden nun zwei, a und b, sogleich filtrirt, während die zwei anderen, a' und b', erst nachdem sie 2 mal 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten, filtrirt wurden. Die Niederschläge aus den zwei Proben wurden alle auf dieselbe Weise behandelt. Sie wurden erst mit den Filtern zwischen Fliesspapier ausgepresst, dann von dem Papiere getrennt, in Wasser mit Alkali genau neutralisirt, wenn nöthig filtrirt, und das so gewonnene Filtrat durch energische Dialyse in künstlichen Wursthülsen von den Salzen befreit. Es schied sich dabei während der Dialyse keine Spur von Eiweiss aus, und da die Lösungen dann mit $MgSO_4$ gesättigt wurden, trat in keiner der vier Proben eine Fällung auf. Nur die Probe b', welche 48 Stunden mit 1% Essigsäure und dem Neutralsalze gestanden hatte, zeigte eine schwache Opalescenz, welche vielleicht als eine Andeutung einer beginnenden Veränderung aufzufassen war.

Versuch V. Zu diesem Versuche wurde ebenfalls mit $MgSO_4$ bei + 30° C. gesättigtes und bei derselben Temperatur filtrirtes Rindsblutserum verwendet. Aus dem Filtrate schied sich wie gewöhnlich beim Erkalten eine reichliche Menge

Magnesiumsulfat aus, und erst das hiervon getrennte neue Filtrat wurde zum Versuche benutzt. Dieses Filtrat wurde nun zu zwei Versuchsreihen, A mit Salzsäure und B mit Essigsäure, verwendet. Die salzsäurehaltigen Proben enthielten resp. 0,25, 0,5 und 1 % HCl. Die Proben mit Essigsäure enthielten resp. 0,5 und 1 % Essigsäure. Jede Probe von einem bestimmten Säuregehalte wurde in vier gleich grosse Portionen getheilt, so dass die Einwirkung der Säure bei Zimmertemperatur nach Verlauf von resp. 3, 6, 10 und 14 Tagen beobachtet werden konnte. Die Niederschläge wurden wie in dem vorigen Versuche behandelt, nur mit dem Unterschiede, dass die abfiltrirten, ausgepressten, von dem Filtrum getrennten und in Wasser gelösten Niederschläge nach der sorgfältigen Neutralisation der Lösungen einer Dialyse nicht unterworfen, sondern direkt mit überschüssigem $MgSO_4$ behandelt wurden.

Das Ergebniss dieses Versuches war folgendes: In der Versuchsreihe B, welche die Proben mit Essigsäure und Magnesiumsulfat enthielt, konnte selbst nach 14tägiger Einwirkung von 1 % Säure keine Umwandlung des Serumalbumins in Acidalbuminat oder Globulin nachgewiesen werden; es trat weder bei der Neutralisation der Lösung, noch bei ihrer Sättigung mit $MgSO_4$ eine Trübung auf. Dagegen war die Lösung, selbst wenn die Säure nur drei Tage eingewirkt hatte, nicht ganz wasserhell, sondern sehr schwach opalisirend.

In den Salzsäure enthaltenden Proben konnte nach Verlauf von zehn Tagen noch nicht die geringste Umwandlung des Serumalbumins in Acidalbuminat nachgewiesen werden. Nach Verlauf von vierzehn Tagen war doch in derjenigen Probe, welche 1 % HCl enthalten hatte, eine theilweise, wenn auch sehr geringfügige, Umwandlung in Acidalbuminat nicht zu verkennen. Der abfiltrirte und ausgepresste, in Wasser fein zertheilte Niederschlag löste sich bei der Neutralisation nicht vollständig auf, sondern es blieb ein kleiner, ungelöster Rückstand auf dem Boden des Gefässes liegend. Die hiervon durch Filtration getrennte Flüssigkeit wurde doch von überschüssigem Magnesiumsulfat nicht gefällt, und es

hatte also jedenfalls nur eine sehr unbedeutende Umwandlung des Serumalbumins stattgefunden. Dagegen lieferten auch in dieser Versuchsreihe die mit Säuren behandelten Proben nach der Neutralisation keine ganz klare, sondern stets etwas (wenn auch sehr schwach) opalisirende Lösungen.

Die nun mitgetheilten Versuche zeigen also, dass das Serumalbumin lange nicht so rasch, wie man glauben sollte, in Acidalbumin übergeführt wird. Selbst nach 10 tägiger Einwirkung von einer 1-procentigen Salzsäure auf die mit $MgSO_4$ gesättigte Serumalbuminlösung hatte noch keine bemerkbare Umwandlung in Acidalbuminat stattgefunden. Erst nach vierzehn Tagen war eine solche — wenn auch sehr geringfügige — Umwandlung bemerkbar, und wenn man sich vergegenwärtigt, dass in den oben mitgetheilten Versuchen I und II die Salzsäure (von 1 %) allein bei Abwesenheit von $MgSO_4$ eine Umwandlung in Acidalbuminat schon nach acht Tagen bewirkt hatte, so scheint es, als wäre die Angabe von Eichwald, dass das Salz die Umwandlung in Acidalbuminat verzögert, eine richtige und begründete.

Um das Serumalbumin auf Grundlage der nun mitgetheilten Beobachtungen darzustellen, kann man auf folgende Weise verfahren: Das Blutserum wird erst bei + 30° C. mit $MgSO_4$ gesättigt und bei derselben Temperatur filtrirt. Nach dem Erkalten wird von dem auskrystallisirten Salze abfiltrirt, das Filtrat mit 0,5—1 % Essigsäure versetzt (von 0,5 % wird das Serumalbumin doch nur ziemlich unvollständig gefällt) und der Niederschlag nach einigen Stunden abfiltrirt. Der Niederschlag wird ausgepresst, in Wasser gelöst, die Lösung neutralisirt und von Neuem mit $MgSO_4$ gesättigt, wobei die bei der ersten Ausfällung in dem Serum vielleicht zurückgebliebenen Spuren von Globulin ausgefällt und entfernt werden können. Das Filtrat wird von Neuem mit Essigsäure gefällt, der Niederschlag ausgepresst, in wenig Wasser gelöst, die Lösung neutralisirt und einer energischen Dialyse unterworfen. Wenn die Lösung dabei sehr verdünnt wird, concentrirt man sie bei etwa + 40° C. und dialysirt dann wieder. Aus der auf diese Weise gewonnenen Lösung kann das

Serumalbumin zuletzt, wie dies in der Abhandlung von Starke[1]) angegeben worden ist, mit Alkohol ausgefällt und in festem Zustande erhalten werden. Das so gewonnene Serumalbumin verhält sich, so weit ich gefunden habe, wie das nach der Methode von Starke dargestellte. Die Lösungen scheinen doch bisweilen etwas weniger klar zu sein, und es ist also doch nicht ganz unmöglich, dass das Serumalbumin durch die combinirte Wirkung von Säure und Salz eine Veränderung erlitten hat, wenn auch diese Veränderung nicht so weit geht, dass eine Umwandlung in Acidalbumin stattfindet. Vielleicht könnte die Untersuchung der specifischen Drehung Aufschluss hierüber geben. Eine solche Untersuchung hat doch bisher nur Zahlen gegeben, welche von dem vorher gefundenen Werthe der specifischen Drehung des Serumalbumins so wenig abweichen, dass die Differenz auf die Rechnung der unvermeidlichen Observationsfehler geschrieben werden kann. Unter solchen Verhältnissen dürfte wohl auch der obenerwähnten Opalescenz keine zu grosse Bedeutung beigemessen werden können.

Gegen die Brauchbarkeit der neuen Methode zur Reindarstellung des Serumalbumins kann übrigens theoretisch die Einwendung gemacht werden, dass durch das $MgSO_4$ bei Gegenwart von Säure nach der Erfahrung von Hofmeister auch die Peptone gefällt werden sollen. Die Spuren von Peptonen, die im Serum vorkommen, dürften doch wohl von so untergeordneter Bedeutung sein, dass sie die Anwendbarkeit der Methode wohl kaum beeinträchtigen können.

---

[1]) Vergl. Maly's Jahresberichte, Bd. 11.

Ein Beitrag zur Kenntniss des Pepsins.

Von

Carl Sundberg.

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie in Upsala.)
(Der Redaktion zugegangen am 3. Januar 1885.)

Unsere Kenntniss von der Natur der ungeformten Fermente ist bekanntlich äusserst dürftig, und die Reindarstellung dieser Substanzen dürfte wohl noch in keinem Falle als sicher gelungen anzusehen sein. Auch die Frage von der Verwandtschaft der Enzyme mit den Eiweissstoffen ist noch unentschieden; und es zeigen die bisher möglichst isolirten Fermente in dieser Hinsicht ein wesentlich verschiedenes Verhalten. Während also beispielsweise das Trypsin, wie es von Kühne dargestellt worden ist, den Eiweissstoffen mindestens sehr nahe verwandt ist, zeigt dagegen das nach der Brücke'schen Methode dargestellte Pepsin ein von den Eiweissstoffen wesentlich abweichendes Verhalten.

Die Eiweissnatur des Pepsins ist doch hierdurch eigentlich nicht ausgeschlossen; denn es wäre denkbar, dass die physiologische Reaktion dieses Enzyms, d. h. also seine verdauende Wirkung, ein ungemein empfindlicheres Reagens als die gewöhnlichen Eiweissreaktionen wäre. Es war darum von Interesse, das Pepsin wenn möglich auch auf eine andere Weise darzustellen und die Eigenschaften dieses Pepsins mit denjenigen des Brücke'schen Präparates zu vergleichen.

Zu dem Ende habe ich auch in dem hiesigen Institute für medicinische Chemie auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Hammarsten einige Versuche über diesen Gegenstand ausgeführt.

Meine Versuche sind mit Kalbsmägen angestellt, welche genau gereinigt und dann von dem Pylorustheile befreit wurden. Als Extraktionsmittel habe ich verschiedene Flüssigkeiten versucht; die besten Resultate — d. h. die pepsinreichste und gleichzeitig von Eiweiss am wenigsten verunreinigte Infusion — erhielt ich doch bei Anwendung von einer gesättigten Kochsalzlösung. Eine gesättigte Salicylsäurelösung leistete auch recht gute Dienste.

Behufs der Extraktion mit gesättigter Kochsalzlösung verfuhr ich auf folgende Weise: Zuerst wurde der Pylorustheil abgetrennt, und dann von der Oberfläche des genau gereinigten und mit Wasser abgespülten Magens die oberflächlichste Schicht der Schleimhaut mit einem Uhrglase leise abgeschabt. Die so erhaltene Masse wurde mit einer abgewogenen Menge Kochsalz fein zerrieben und dann so viel Wasser zugesetzt, dass eine gesättigte Kochsalzlösung erhalten wurde. Nach Verlauf von 2—3 mal 24 Stunden wurde filtrirt und das NaCl durch Dialyse in Wursthülsen aus der Lösung entfernt. Es war dabei doch nothwendig, die Dialyse in angesäuertem Wasser von Statten gehen zu lassen, denn in neutraler Lösung kann das Pepsin ziemlich rasch zerstört werden.

Bei der Dialyse fand regelmässig die Ausscheidung einer Proteinsubstanz — wenn auch in geringer Menge — statt. Die Lösung wurde also schon während der Dialyse etwas ärmer an Eiweiss; dabei wurde doch gleichzeitig auch ein wenig Pepsin verloren, welches von dem Eiweissniederschlage mit niedergerissen worden war.

Die so gewonnene dialysirte Lösung verdaute ungemein kräftig, enthielt aber nur so wenig coagulables Eiweiss, dass die Heller'sche Eiweissprobe erst nach 1—3 Minuten eine deutlich sichtbare Reaktion gab.

Ausser den verunreinigenden Eiweissspuren konnte diese Lösung noch von dem Labfermente verunreinigt sein. Dieses Ferment wird nun, wie Hammarsten gezeigt hat, durch anhaltendes Erwärmen der sauren Lösung bei etwa 40° C. zerstört; und da das Eiweiss dabei gleichzeitig in Pepton

verwandelt wird, war es also nothwendig, die obige saure Lösung einer anhaltenden Selbstverdauung zu unterwerfen. Bei dieser Verdauung wurde nun auch das Eiweiss so vollständig in Pepton übergeführt, dass die neutralisirte Flüssigkeit mit Essigsäure und Ferrocyankalium gar keine Reaktion gab und mit der weit empfindlicheren Heller'schen Probe erst nach 8—9 Minuten die Andeutung eines Ringes zeigte. Um ein solches Resultat zu erhalten, musste doch die Verdauung oft 1 à 2 Wochen fortgesetzt werden, und dabei konnte auffallender Weise keine merkbare Herabsetzung der Verdauungsfähigkeit beobachtet werden.

Behufs der weiteren Reinigung der so erhaltenen Pepsinlösung wurde die noch saure Lösung mit Chlorcalcium- und Natriumdiphosphatlösung vermischt und dann durch Zusatz von sehr verdünntem Ammoniak neutralisirt oder höchstens äusserst schwach alkalisch gemacht. Der Phosphatniederschlag reisst dabei einen Theil des Pepsins mit sich nieder, während ein nicht unbedeutender Theil davon in der Lösung bleibt. Will man eine vollständigere Ausfällung des Pepsins erreichen, muss man darum auch das Ausfällen mit Calciumphosphat 2 oder 3 mal wiederholen, denn es hilft nicht, wenn man auf ein Mal eine grosse Menge von Chlorcalcium und Natriumphosphatlösung zusetzt.

Der pepsinhaltige Calciumphosphatniederschlag wird auf ein Filtrum gesammelt, sorgfältig gewaschen und dann in möglichst wenig (damit die neue Lösung möglichst concentrirt werde) Salzsäure von 5°/o gelöst. Diese Lösung wird nun bis zum möglichst vollständigen Entfernen der verunreinigenden Salze dialysirt.

Die zuletzt erhaltene, völlig klare, ungefärbte Lösung, verdaut — auf den passenden Säuregrad gebracht — ausserordentlich kräftig und — wenn möglich — noch kräftiger als die ursprüngliche Lösung.

Bei der qualitativen Prüfung verhielt sich diese Lösung negativ zu allen denjenigen Eiweissreagentien, Gerbsäure, Quecksilberchlorid, Jod u. A., gegen welche die Brücke'sche Pepsinlösung indifferent war. Im Gegensatz zu dem Brücke-

schen Pepsin verhielt sich meine Lösung auch indifferent zu Platinchlorid, Bleizucker und Bleiessig, von welchen Reagentien die Brücke'sche Pepsinlösung gefällt wurde.

Das einzige Reagens, von welchem meine Pepsinlösung gefällt wurde, war absoluter Alkohol. Bei Zusatz von 5 bis 6 Volum Alkohol wurde nämlich die Lösung fast sogleich opalisirend und nach Verlauf von etwa einer Stunde enthielt die Flüssigkeit in geringer Menge eine rein weisse, flockige Fällung. Die Fällung wurde abfiltrirt und in angesäuertem Wasser gelöst. Sie hatte durch die Ausfällung mit Alkohol ihre verdauende Kraft nicht eingebüsst. Nach längerer (monatelanger) Aufbewahrung unter Alkohol war der Niederschlag dagegen unlöslich und unwirksam geworden.

Die Menge des so gewonnenen Niederschlages war keine so grosse, dass eine Elementaranalyse versucht werden konnte. Nur so viel kann ich sagen, dass die Substanz stickstoffhaltig war. Beim Erhitzen auf einem Platinbleche wurde nämlich ein ziemlich starker Geruch nach gebranntem Horn wahrgenommen; und die Substanz verbrannte unter Hinterlassung von einer nicht unbedeutenden Menge Asche.

Abgesehen von den Mineralbestandtheilen war also das von mir isolirte Pepsin reiner als das Brücke'sche, insofern als dieses von Platinchlorid, Bleizucker und Bleiessig gefällt wurde, welche Reagentien in meinen Pepsinlösungen keine Niederschläge hervorriefen. Mit den Eiweissreagentien wurde in meinen Pepsinlösungen, wie in den Brücke'schen, keine positiven Reactionen erhalten, was gegen die Eiweissnatur des Pepsins spricht. Man kann zwar hiergegen einwenden, dass auch meine Lösungen arm an Substanz waren; wenn man sich aber vergegenwärtigt, dass sie sehr kräftig verdauten, dass sie von Gerbsäure, welche doch das Eiweiss in einer Lösung von 1:100000[1]) anzeigt, nicht getrübt wurden, während Alkohol, welcher doch kein empfindlicheres Eiweissreagens als Gerbsäure ist, eine flockige Fällung gab, so wird die Eiweissnatur des Pepsins mindestens sehr unwahrscheinlich.

---

[1]) Hofmeister: Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 292.

Untersuchungen über die Kupferoxyd reducirenden Substanzen des normalen Harnes.

Von

M. Flückiger.

(Der Redaktion zugegangen am 2. Februar 1885.)

A. Historische Uebersicht.

I. Glycuronsäureverbindungen.

Unsere Kenntniss der Stoffwechselvorgänge des menschlichen Organismus ist in den letzten 10 Jahren durch die Entdeckung der gepaarten Glycuronsäuren um ein ganz neues Gebiet bereichert worden. Diese Verbindungen fielen zunächst auf durch ihre Fähigkeit, Kupferoxydhydrat in alcalischer Lösung zu reduciren und die Ebene des polarisirten Lichtes nach links zu drehen, und durch ihr Unvermögen, bei Zusatz von Hefe Kohlensäure zu entwickeln; ferner durch caramelartigen Geruch der Verbrennungsproducte.

Eine solche Substanz rein krystallisirt darzustellen, gelang zuerst von Mering und Musculus[1]) 1875; sie erhielten aus dem Harn von Menschen, denen Chloralhydrat verabreicht wurde, die Urochloralsäure, eine Säure, welcher die genannten Eigenschaften zukamen; die Analyse ergab die Formel $C^7H^{12}Cl^2O^6$. Ihre Beziehung zu der damals noch unbekannten Glycuronsäure wurde erst 6 Jahre später, nachdem inzwischen diese Säure von Jaffe und Schmiedeberg beschrieben und in mehreren Verbindungen nachgewiesen worden war, festgestellt.

Jaffe[2]) fand 1878, dass Orthonitrotoluol im Organismus zum kleineren Theil in Orthonitrobenzoesäure, zum grösseren in eine in Aether unlösliche, stark linksdrehende und Kupferoxyd reducirende Säure $C^{14}H^{19}N^2O^{10}$ überging, die er in

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. VIII, S. 622.
[2]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. II, S. 47.

Harnstoff und Uronitrotoluolsäure $C^{13}H^{15}NO^{9}$ zerlegen konnte. Diese letztere spaltete sich bei der Behandlung mit 20procent. Schwefelsäure in 2 Bestandtheile, deren einer, der bisher unbekannte Orthonitrobenzylalcohol, in Aether überging, während in der wässerigen Lösung eine linksdrehende, Kupferoxyd reducirende, nicht gährungsfähige Säure zurückblieb, deren Isolirung nicht gelang. Sie drehte die Polarisationsebene weniger stark nach links, als die Uronitrotoluolsäure. Als ihre wahrscheinliche Formel gab Jaffe $C^{6}H^{10}O^{7}$ an und sprach schon damals die später bestätigte Vermuthung aus, dass in der Urochloralsäure ebenso, wie in der von Wiedemann nach Campherfütterung im Hundeharn gefundenen linksdrehenden Substanz, dieselbe hypothetische Säure als Paarling enthalten sein möge.

Reindargestellt und analysirt wurde dann die fragliche Säure zum ersten Mal von Schmiedeberg und Meyer [1]) Diese beiden Autoren erhielten als Stoffwechselproducte des Camphers: 1. eine krystallisirte α-Camphoglycuronsäure, 2. eine amorphe, procentisch gleich zusammengesetzte, β-Camphoglycuronsäure und 3. eine stickstoffhaltige Uramidocamphoglycuronsäure. Die erste dieser Säuren spaltete sich beim Erhitzen mit 5procentiger Schwefelsäure in Campherol $C^{10}H^{16}O^{2}$ und eine in Aether unlösliche Säure, deren Bleisalz aus wässriger Lösung durch Alcohol in Krystallform gefällt wurde. Aus der Analyse des Bariumsalzes ergab sich für die Säure, welcher der Name Glycuronsäure zugelegt wurde, die Formel $C^{6}H^{10}O^{7}$, in Uebereinstimmung mit der von Jaffe vermutheten. Sie dreht die Polarisationsebene nach rechts (die Linksdrehung der Jaffe'schen Säure erklärt sich wahrscheinlich durch Beimengung von Uronitrotoluolsäure), reducirt Kupferoxyd und geht keine Gährung ein. Bei der Oxydation mit Chromsäure oder Salpetersäure lieferte sie ausser Kohlensäure nur Ameisensäure, deren Bleisalz analysirt wurde. Diese Eigenschaften machten es wahrscheinlich, dass sie als Kohlehydratsäure anzusehen sei; Schmiedeberg giebt ihr die hypothetische Constitution $(CH.OH)^{4} \begin{cases} CHO. \\ COOH. \end{cases}$

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. III, S. 422.

Baumann und Preusse[1]), gleichzeitig Jaffe[2]), wiesen nach Brombenzolfütterung im Harne neben verschiedenen anderen Substanzen eine linksdrehende, Kupferoxyd reducirende Säure nach, welche sich schon beim einfachen Erhitzen in der Weise zersetzte, dass der linksdrehende und Kupferoxyd reducirende Bestandtheil verschwand; der zurückbleibende Theil ist die Bromphenylmercaptursäure $C^{11}H^{12}BrSNO^{3}$. Kossel[3]) erhielt durch Spaltung des von ihm entdeckten Paarungsproductes des Phenetols, der Chinäthonsäure $C^{14}H^{18}O^{9}$, eine aromatische Verbindung und eine mit der Glycuronsäure wahrscheinlich identische oder nahe verwandte Säure, die nicht isolirt werden konnte.

Linksdrehende und Kupfer reducirende Substanzen hatte ferner v. Mering schon früher (1874) auch nach Darreichung von Chloroform[4]), Morphium[5]) und Nitrobenzol[6]) gefunden; und linksdrehende constatirte Külz nach Eingeben von Dichlorbenzol, Xylol, Cumol.[7]) Die Darstellung aller dieser Verbindungen ist noch nicht versucht und ihre Beziehung zur Glycuronsäure deshalb noch hypothetisch.

Dass die Urochloralsäure, entsprechend der schon von Jaffe ausgesprochenen Ansicht, eine gepaarte Glycuronsäure sei, haben v. Mering[8]) und später Külz[9]) nachgewiesen. Der erstere hat nach neueren Analysen die Formel $C^{8}H^{11}Cl^{3}O^{7}$ (nach Külz wäre H^{13} zu setzen) angegeben; die Säure spaltet sich bei Behandlung mit 5procentiger Schwefelsäure in Trichloräthylalcohol und Glycuronsäure. In analoger Weise zerlegt sich die Urobutylchloralsäure, das Stoffwechselproduct des Butylchlorales, in Trichlorbutylalcohol und Glycuronsäure.

---

1) Zeitsch. f. physiol Chemie, Bd. III, S. 156. und Bd. V, S. 309. — Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XII, S. 806.

2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XII, S. 1097.

3) Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 296.

4) Mitgetheilt von Zweifel, Berl. klin. Wochenschr., 1874, S. 246. — Neuerdings bestätigt von Zeller, Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 70.

5) L. cit.

6) Centralbl. f. d. medic. Wissensch., 1875, Nr. 55.

7) Ebendaselbst, 1881, 7. Mai.

8) Zeitsch. f. physiol. Chemie, Bd. VI, S. 480.

9) L. cit.

Von ganz besonderem Interesse ist das Verhalten des Phenols, Benzols (und Brombenzols), Indols im Organismus; diese Körper bilden gleichzeitig gepaarte Schwefelsäuren und gepaarte Glycuronsäuren. Schon 1876 fand Baumann[1]) nach Darreichung grösserer Mengen von Phenol im Harn neben der Phenolschwefelsäure eine zweite Säure, die beim Erhitzen mit Salzsäure Phenol, aber keine Schwefelsäure lieferte. 1877 zeigte derselbe Autor,[2]) dass auch das Indol neben Indoxylschwefelsäure eine nicht schwefelsäurehaltige Verbindung (Glycuronsäureverbindung?) eingehe. Baumann und Preusse[3]) wiesen nach, dass das Benzol sich ganz ähnlich wie das Phenol verhalte, dass ferner das schwefelsäurefreie Paarungsproduct des Phenols die Polarisationsebene nach links drehe, und dass nach Brombenzolfütterung der Harn neben der erwähnten muthmasslichen Glycuronsäureverbindung «Oxydationsproducte des Benzols, ein- und zweiatomige Phenole, in Form von Aetherschwefelsäuren», enthalte. Endlich hat Schmiedeberg[4]) die Frage völlig aufgeklärt: nach seinen Untersuchungen geht das Benzol unter normalen Verhältnissen zum grössten Theil in Phenolschwefelsäuren über; modificirt man aber die Nahrung des Versuchsthieres in der Weise, dass das Benzol im Organismus möglichst wenig freie Schwefelsäure vorfindet, so liefert es neben einer geringen Quantität Phenolschwefelsäure ein Gemenge verschiedener Phenylglycuronsäuren, aus denen die Glycuronsäure abgetrennt und an ihren characteristischen Eigenschaften erkannt werden konnte. Ebenso verhält sich das Phenol; die Untersuchungen von v. Mering[5]) über die Schicksale des Kairins im Organismus machen es wahrscheinlich, dass auch diese Substanz neben der Kairinschwefelsäure Glycuronsäureverbindungen liefert. Wenn ich noch zufüge, dass nach Schmiedeberg auch das Terpentinöl in Glycuronsäureverbindungen

---

1) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XIII, S. 299.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. I, S. 68.

3) L. cit.

4) Archiv für experimentell. Pathologie, Bd. XIV, S. 306.

5) Zeitsch. f. klinische Medicin, Bd. VII, Suppl.-Heft, S. 149.

übergeht, so ist damit die Reihe der bisher bekannt gewordenen Körper dieser Art erschöpft.

Es tritt also die Glycuronsäure mit den verschiedenartigsten, dem Organismus einverleibten Stoffen in Verbindung und wird dann mit dem Harn ausgeschieden; es ist kaum zu bezweifeln, dass auch im normalen Stoffwechsel geringe Mengen dieser Säure gebildet werden und in den Harn übergehen. Ihre Eigenschaften machen ihre Entstehung aus dem Zucker äusserst wahrscheinlich. Im diabetischen Harn ist wiederholt eine stärkere Rechtsdrehung, als dem durch Titrirung bestimmten Zuckergehalt entsprach, beobachtet worden und möglicher Weise durch Anwesenheit von Glycuronsäure zu erklären; sollte sich diese Annahme bestätigen, so würde dadurch der angedeutete Zusammenhang zwischen Zucker und Glycuronsäure noch wahrscheinlicher.

Die Untersuchungen von Schmiedeberg, v. Mering u.A. haben gezeigt, dass die fragliche Säure schon beim Erhitzen ohne Zusatz irgend welcher Agentien sich ausserordentlich leicht zersetzt; es kann deshalb aus der Thatsache, dass bisher bei normalem Stoffwechsel weder in thierischen Secreten noch Excreten Glycuronsäure nachgewiesen worden ist, keineswegs auf völlige Abwesenheit derselben geschlossen werden.

Der normale menschliche Harn enthält Substanzen von zum Theil unbekannter Natur, welche Kupferoxyd reduciren; unter diesen müsste die Glycuronsäure, wenn sie überhaupt vorhanden ist, enthalten sein, hier muss sie gesucht werden. Bevor ich zu meinen eigenen, von diesem Gesichtspunkt aus angestellten Versuchen übergehe, muss erörtert werden, was bisher von diesen reducirenden Substanzen bekannt geworden ist, insbesondere die Frage, ob unter denselben Traubenzucker regelmässig vorhanden oder sogar als hauptsächlicher reducirender Bestandtheil des Harnes anzusehen sei.

II. Enthält der normale menschliche Harn Traubenzucker?

Diese Frage ist seit langer Zeit Gegenstand ausserordentlich zahlreicher Forschungen gewesen. Eine Reihe verschiedener Methoden ist ersonnen worden, um qualitativ oder

quantitativ den Zucker im Harn nachzuweisen. Die sonst gebräuchlichen Zuckerproben, die Heller'sche, Trommer'sche, Böttger'sche etc., ferner die Titrirung mit Fehling'scher oder Knapp'scher Lösung, müssen zu dem genannten Zweck als völlig unbrauchbar bezeichnet werden, weil die Fähigkeit, Kupfer-, Wismut-, Quecksilberoxyd zu reduciren, noch vielen anderen Substanzen zukommt, von denen einige erwiesener Maassen im Harn vorhanden sind (Harnsäure, Kreatinin). Von sonstigen Methoden sind zu nennen:

1. Gährungsprobe.
2. Nachweis durch Circumpolarisation.
3. Methode von Huizinga.
4. Versuche, den Traubenzucker rein darzustellen:
   a) als Zuckerkali,
   b) als Bleisaccharat.

Den unter 4. angedeuteten Weg hat zuerst Brücke eingeschlagen. Die erste Methode, die er angab, besteht darin, dass man frischem Harn so viel Alcohol zusetzt, dass das Gemisch 80% absoluten Alcohol enthält, alsdann zu der vom Niederschlag abfiltrirten Flüssigkeit alcoholische Kalilauge tropfenweise, so lange als dadurch Trübung erzeugt wird, zufügt. Auf diese Weise gewann Brücke büschelförmige Krystalle, die er für Zuckerkali hielt. Kurze Zeit darauf zeigte Bence Jones, später J. Seegen, dass Zuckerkali in 80procentigem, ja selbst noch in 90procentigem Alcohol ziemlich löslich sei, dass es nur aus fast absolutem Alcohol als firnissartige Masse, nicht in Krystallform, ausfalle, und dass eine Darstellung von Zuckerkali aus dem Harn nach dem Brücke'schen Verfahren unausführbar sei.

Auch die später von Lehmann und Abeles vorgeschlagenen Modificationen der Methode haben ein besseres Resultat nicht erzielt, als dass man schmierige braune Massen bekam, die neben Zuckerkali — resp. neben der Substanz, die man dafür hielt — noch reichliche Mengen anderer Harnbestandtheile enthielten.

Ein reineres Ergebniss, als das damit bezeichnete, hat auch die zweite Brücke'sche Methode nicht erzielt; immer-

hin ist sie bis jetzt die einzige brauchbare, um die fragliche reducirende Substanz des Harnes wenigstens von einem grossen Theil der übrigen Bestandtheile abzutrennen und in einigermassen concentrirter, für Gährungsproben und Circumpolarisationsbestimmungen verwendbarer Lösung zu erhalten. Sie ist zur Grundlage für fast sämmtliche spätere Untersuchungen geworden. Das Verfahren, wie es von Brücke und den späteren Autoren angewendet wird, beruht im Wesentlichen in Folgendem: Grosse Mengen Harn werden mit neutralem Bleiacetat, basischem Bleiacetat, Ammoniak successive ausgefällt, der letzte oder auch die beiden letzten Niederschläge mit Oxalsäure, Schwefelwasserstoff oder Schwefelsäure zerlegt, das so erhaltene Filtrat neutralisirt (mit Calciumcarbonat) und eingeengt. Brücke gewann auf diese Weise eine Lösung, in welcher er Zucker nachwies: 1. durch Reductionsproben, 2. durch Gährung. Diese Resultate hat dann Bence Jones bestätigt und hinzugefügt, dass 3. die Lösung die Polarisationsebene nach rechts dreht. Tuchen, Iwanoff, Meissner und von Babo sind zu ähnlichen Ergebnissen gelangt.

Huizinga hat einen neuen Nachweis des Zuckers auf seine Eigenschaft, Molybdänsäure zu reduciren, basiren wollen (die Reduction erkennt man daran, dass die Flüssigkeit grünblaue Farbe annimmt). Seine Versuche bieten indess gar keine Garantie dafür, dass der Harn, auch nach der vorgeschlagenen Ausfällung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd, nicht noch andere Substanzen enthalte, die auf Molybdänsäure reducirend einwirken.

Gegen die Anwesenheit von Zucker hat dann zuerst Friedländer einen interessanten Beweis erbracht: er fand, dass durch starke Jodjodkaliumlösung der Zucker zersetzt, die reducirende Substanz des Harns dagegen nicht verändert wird (Harnsäure wird durch Jodjodkali auch zersetzt). Ferner kam Maly bei seinen Untersuchungen auf Zucker zu völlig negativen Resultaten. Auf Grund einer grossen Reihe eigener Forschungen und einer umfassenden Kritik aller früheren hat dann J. Seegen in überzeugender Weise dargethan, dass ein Beweis für das Vorhanden-

sein von Zucker im normalen Harn noch nicht geleistet sei, und dass die dazu benutzten Methoden nicht genügten. Seine Hauptargumente sind folgende:

1. Die Gährungsproben haben so minimale Mengen von Kohlensäure ergeben (die von Brücke und Bence Jones notirten Werthe würden einem Zuckergehalt von 0,001—0,002% im Harn entsprechen), dass sie sehr wohl aus anderen Quellen als aus Zucker stammen können. Denn nach den Untersuchungen von Pasteur und Liebig producirt die Hefe selbst durch einen Process von Selbstvergährung Kohlensäure und Alcohol, und andererseits findet im Harn auch ohne Hefezusatz eine Kohlensäureentwickelung statt, vielleicht durch Zersetzung von Harnstoff. So bekam Seegen aus 100 c. c. Harn ohne Hefe in drei Tagen 22 Milligr. Kohlensäure. Schon Leconte hat behauptet, eine Flüssigkeit könne nicht mit Sicherheit als zuckerhaltig bezeichnet werden, wenn sie nicht bei der Gährung schon in den ersten zwei Stunden Kohlensäureblasen aufsteigen lasse.

2. Die Beobachtungen über Rechtsdrehung constatiren alle eine geringere Drehung als diejenige, welche einer 0,3procentigen Zuckerlösung entspricht. Seegen findet, dass die nach oben beschriebener Methode gewonnenen Lösungen auch nach bestmöglicher Entfärbung noch schwach gelblich und nicht genügend klar seien, um eine Drehung um 1 Theilstrich des Soleil-Ventzke'schen Apparates — 1 Theilstrich entspricht 0,35% Dextrose — mit Sicherheit erkennen zu lassen.

Külz hat dann 100 Liter Harn verarbeitet, ohne Zucker nachweisen zu können. Pavy hat im Wesentlichen nur wieder Brücke's Versuche wiederholt und ist zu denselben Resultaten gelangt. Eine sehr lebhafte Anregung erfuhr die Discussion der Zuckerfrage 1879 durch die Arbeiten von Abeles. Sein Verfahren weicht trotz einiger Modificationen (unter Anderem Zerlegung des Ammoniakniederschlages mit Schwefelsäure, während vor ihm allgemein Schwefelwasserstoff oder Oxalsäure zu diesem Zweck verwendet war) in allen

Momenten, auf die es ankommt, kaum wesentlich von dem von Brücke u. a. eingeschlagenen ab. Aber die Resultate unterscheiden sich insofern von allen früheren, als Abeles bedeutend mehr Kohlensäure erhielt und eine Drehung beobachtete, welche die von Seegen angegebene Fehlergrenze entschieden überstieg, nämlich bis 0,7% Dextrose entsprechend.

Es muss aber hier hervorgehoben werden, dass auch diese letztere Beobachtung die Anwesenheit von Zucker durchaus nicht beweist, weil auch die Glycuronsäure rechts dreht. Dasjenige Moment, welches, so lange die Reindarstellung des Zuckers aus dem normalen Harn nicht geglückt ist, einzig als sicheres Kriterium bezeichnet werden kann und das als Postulat für den Zuckernachweis aufgestellt werden muss, ist eine Gährung, die schnell eintritt und hinreichend grosse Mengen von Kohlensäure liefert, so dass die oben angedeuteten Fehlerquellen vernachlässigt werden können. Um so mehr ist zu bedauern, dass Abeles uns von seinen Gährungsproben ein einziges Mal überhaupt nur die Ziffer der gewonnenen Kohlensäure (0,103 gr. aus 25 Litern Harn von 7 gesunden Menschen) mittheit, aber nicht die mindeste Auskunft über den Verlauf der Gährung und die Details der Ausführung giebt. Der von ihm so betonte qualitative Nachweis des Gährungs-Alcohols ist deswegen völlig irrelevant, weil die Hefe selbst so viel Alcohol producirt, dass er im Destillat nachgewiesen werden kann.

Wenn immerhin das relativ beträchtliche Quantum Kohlensäure, das Abeles erhielt, es nicht unmöglich erscheinen liess, dass wenigstens bei dieser Einen Bestimmung Zucker in der That vorhanden war, so stehen dem Einen positiven Resultat so viel negative gegenüber, die mit kaum differenten Methoden von Seegen, Maly, Külz u. a. gewonnen waren, dass der Satz als sicher ausgesprochen werden darf:

Der normale menschliche Harn enthält in den weitaus meisten Fällen nicht nachweisbare Mengen von Zucker.

Ich möchte hier noch eines Versuches von Seegen gedenken, der von grosser Bedeutung ist: von 0,5 gr. Zucker, die er zu 1 Liter normalen Harns zusetzte, konnten $^2/_3$ in den Bleiessig-Ammoniakniederschlägen durch Gährung und Circumpolarisation nachgewiesen werden. In 8 Litern normalen Harns ergab dagegen genau dasselbe Verfahren ein völlig negatives Resultat. Seegen zieht daraus den kaum anfechtbaren Schluss, dass der normale Harn, wenn er überhaupt Zucker enthalte, nicht mehr als allerhöchstens 0,006 % enthalten könne.

Der normale Harn reducirt aber etwa 30 bis 40 mal so stark wie eine 0,006 % Zuckerlösung (s. die quantitativen Bestimmungen S. 18 dieser Arbeit). Sein Gehalt an Harnsäure kann nach Worm-Müller nicht den vierten Theil dieser Reductionsfähigkeit erklären; Harn, aus dem die Harnsäure durch Salzsäure ausgefällt ist, reducirt nur unerheblich schwächer als vor der Ausfällung. Das Kreatinin kommt noch viel weniger in Betracht. Es erscheint demgemäss die Folgerung als zwingend: dass der Harn ausser Harnsäure, Kreatinin und der eventuell vorhandenen, nicht nachweisbaren, jedenfalls minimalen Zuckermenge noch sonstige reducirende Substanzen enthalte.

Brücke und Abeles selbst notiren bei ihren Versuchen, den Zucker nachzuweisen, Erscheinungen, welche darauf hindeuten, dass sie es in Wirklichkeit mit anderen Substanzen zu thun hatten. Brücke fand, dass Traubenzucker, in reinem Wasser gelöst, durch Bleiessig gar nicht, in Harn gelöst, zum kleinern Theil durch Bleiessig, zum grössern erst durch Ammoniak gefällt wurde, während die reducirende Harnsubstanz, die er für Zucker hielt, zum grössern Theil in den Bleiessigniederschlag hineinging. Dasselbe lässt sich an harnsäurefreiem Harn nachweisen. Abeles beobachtete, dass die reducirende Substanz bei starkem Eindampfen spurlos verschwand, ebenso manchmal beim Behandeln des Bleiessig-Ammoniakniederschlages mit Schwefelwasserstoff. Als er in eine solche durch Schwefelwasserstoffbehandlung erhaltene Lösung, die deutlich rechts drehte, noch

mehr Bleiessig-Ammoniakniederschlag eintrug, war nach abermaligem Durchleiten von Schwefelwasserstoff die Rechtsdrehung nicht mehr vorhanden. Eine so leichte Zersetzbarkeit ist, wie Seegen hervorhebt, beim Traubenzucker niemals beobachtet worden.

Die in Abschnitt II. der historischen Uebersicht benutzte Literatur ist folgende:

E. Brücke, Wiener Academische Sitzungsberichte, Bd. XXIX, S. 346, Bd. XXXIX, S. 10. — Wiener Medicinische Wochenschrift, 1858, Nr. 10--12.
Bence Jones, Chem. Soc. Quarterly Journ, Vol. XIV, p. 22.
Tuchen, Archiv für pathologische Anatomie, Bd. XXXVII, S. 267.
Iwanoff, Ueber die Glycosurie der Schwangeren, Dissert., Dorpat 1861.
Meissner und v. Babo. Zeitschrift für rationelle Medicin (3), Bd. II.
Huizinga, Pflüger's Archiv, 1870, 10 und 11. Heft.
Pavy, Guy's Hospit. Reports, Vol. XXI, p. 413.
Abeles, Centralblatt für die medicinische Wissenschaft, 1879, Nr. 3, Nr. 12, Nr. 22.
Friedländer, Archiv der Heilkunde, Bd. VI, S. 97.
R. Maly, Wiener Academische Sitzungsberichte, Bd. LXIII, II. 9. März 1871.
J. Seegen, Wiener Academische Sitzungsberichte, Bd. LXIV, II. 20. April 1871. — Diabetes mellitus, 2. Aufl., Berlin 1875, S. 196.
Derselbe, Wiener Medicinische Wochenschrift, 1878, Nr. 12, Nr. 13. — Centralblatt für die medicinische Wissenschaft, 1879, Nr. 8, Nr. 16.
Külz, Pflüger's Archiv, Bd. XIII, S. 296.
Worm-Müller, Pflüger's Archiv, Bd. XXVII, S. 22.

B. Eigene Untersuchungen.

I Quantitative Bestimmung der Reductionsfähigkeit des normalen Harnes.

Es existirt bisher noch keine brauchbare Methode, um die Menge Kupfersulfat, welche ein gemessenes Quantum Harn zu reduciren vermag, exact zu bestimmen.

Worm-Müller[1]) hat vorgeschlagen, das Cyanquecksilber zur Titrirung der reducirenden Substanzen des Harns zu verwenden; doch ist die Knapp'sche Lösung bedeutend

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. XXVII, S. 22.

weniger empfindlich als die Fehling'sche und giebt, wie Bestimmungen kleiner Zuckermengen in leicht diabetischem Harn zeigen, viel ungenauere Resultate. Worm-Müller selbst giebt an, dass Harnsäure und Kreatinin auf Quecksilberoxyd weniger leicht einwirken als auf Kupferoxyd. Die noch unbekannten reducirenden Substanzen des Harns wirken aber auf reducirbare Körper noch weniger leicht ein als die Harnsäure; um so mehr erschien der Versuch geboten, das unzweifelhaft empfindlichste Reagens, das Kupfersulfat, in Form der Fehling'schen Lösung zu dem bezeichneten Zwecke verwendbar zu machen.

Wenn man zu 20 c. c. Fehling'scher Lösung,[1]) die mit 80 c. c. Wasser verdünnt sind, 10—20 c. c. normalen menschlichen Harns zusetzt, so nimmt die Mischung, welche volkommen klar bleibt, eine dunkelblaugrüne Farbe an; erhitzt man jetzt auf 100°, so ändert unmittelbar nach dem Kochen die Flüssigkeit ihr Aussehen nicht oder wird höchstens etwas mehr grün. 3, 4, oft auch 10—12, in einzelnen Fällen erst 15 Minuten nach dem Kochen beginnt sie sich leicht zu trüben, wird dann schnell vollständig undurchsichtig und bekommt eine intensiv hellgrüngelbe, unter Umständen (bei starker Reduction) auch an's Gelbrothe streifende Farbe. Spärliche rothe Flocken fallen dabei nur ganz ausnahmsweise zu Boden (Fälle, wo der Harn eine Spur Zucker enthält?); unter 60 Harnen von gesunden Individuen habe ich diese Erscheinung nur Einmal gesehen. Die gelbgrüne Flüssigkeit passirt unverändert, und ohne etwas zurückzulassen, das Filter.

Anderweitig gemachten Angaben gegenüber hebe ich hervor, dass alle normalen Harne fast ausnahmslos — mir ist unter 60 Fällen nur Eine Ausnahme vorgekommen — eine Reduction nach dem beschriebenen Typus zeigen. Nur ist dazu häufig nöthig, dass man die Mischung $^1/_2$—$^3/_4$ Minute

[1]) Die bei den Versuchen benutzte Lösung war nach der ursprünglichen Fehling'schen Vorschrift zusammengesetzt: Cuprum sulfuricum 34,65, Tartarus natronatus 173,0 aufgelöst in 600 gr. Natronlauge von 1,12 specifischem Gewicht, das Ganze auf 1 Liter verdünnt. 20 c. c. dieser Lösung werden von 20 c. c. 0,5procent. Traubenzuckerlösung genau reducirt.

im Kochen erhält, dann 5—10 Minuten stehen lässt, eventuell, wenn die Reduction nicht sichtbar wird, nochmals auf 100° erhitzt und wieder erkalten lässt. Ich kann mich auch dem Rathe Neubauer's, Fehling'sche Lösung nicht bis auf den Siedepunkt zu erwärmen, weil sonst leicht Kupferoxyd ausfalle, nicht anschliessen: ich habe bei vorsichtiger Erwärmung mit kleiner Flamme und unter Vorsichtsmassregeln, welche das Ueberhitzen und Stossen verhüteten, niemals eine Ausscheidung von Kupferoxyd beobachtet.

Der erwähnte einzige Fall, wo ein gar nicht reducirender Harn gefunden wurde, betraf eigenthümlicher Weise einen Diabetes leichtesten Grades, von welchem nur bei reichlicher Kohlehydratzufuhr 0,5—0,7% Zucker, bei vorwiegender Fleisch- und Fett-Diät ein völlig zuckerfreier Harn von 1015—1020 specifischem Gewicht secernirt wurde: dieser Harn liess Fehling'sche Lösung bei allen Modificationen des Versuchs unverändert[1]).

Da also nach obiger Beschreibung das durch Reduction gebildete Kupferoxydul vom Harn in Suspension, zum Theil wohl auch in Lösung gehalten wird, ist es unmöglich, durch weiteres Zusetzen von Harn in der Weise, wie mit Zuckerlösungen verfahren wird, zu Ende zu titriren. Es gelingt indessen, bei passender Abmessung der Quantitäten von Harn uud Fehling'scher Lösung, in allen Fällen durch Zufügen einer geeigneten Menge von Zuckerlösung das Kupferoxydul zur Ausscheidung zu bringen. Wenn man nämlich zu einer solchen

---

[1]) Es wurde dabei noch eine zweite Eigenthümlichkeit beobachtet: Wenn man zu normalem Harn mehr Kupfersulfat zusetzt, als er bei Zufügen von Natronlauge zu lösen vermag, so fällt das Ueberschüssige als Kupferoxydhydrat in hellblauen Flocken aus; beim Kochen werden diese blauen Flocken, wenn die Menge des Kupfers eine gewisse — für verschiedene Harne verschiedene — Grenze nicht überschreitet, nicht verändert, nicht in schwarzes Kupferoxyd übergeführt. Der erwähnte zuckerfreie Harn eines Diabetikers besass diese Fähigkeit, Kupferoxydhydrat vor dem Uebergang in Kupferoxyd zu bewahren, fast gar nicht, sondern liess beim Kochen selbst geringe Mengen zugefügten Kupfersulfats in Form schwarzer Flocken fallen. Er hielt ausserdem auch sehr wenig Kupfer in Lösung (in der Kälte).

grüngelben Mischung, wie sie oben geschildert ist, eine 0,5procentige Traubenzuckerlösung in der Weise zufliessen lässt, dass nach jedesmaligem Zusatz von je 1 c. c. Zuckerlösung zum Kochen erhitzt und filtrirt wird, so erhält man Filtrate, welche um so klarer werden, je mehr man sich dem Punkte, wo alles Kupferoxyd reducirt ist, nähert. Filtrirt man jedesmal nur einen ganz kleinen Theil der Gesammtflüssigkeit ab und stellt sich eine Reihe derartiger Filtrate neben einander, so sind die ersten noch trüb grüngelb, dann werden sie vollkommen klar und grünblau, zuletzt schwach grünblau, endlich hellgelb. Der Eintritt dieser Endreaction lässt sich bei einiger Uebung scharf erkennen. Verfährt man in der Weise, dass man die Filtrate, so lange sie noch grünblau sind, immer wieder zu der Gesammtflüssigkeit zufügt, so kann man genau so lange titriren, bis alles Kupferoxyd reducirt ist. Die Differenz aus dem Quantum a der Fehling'schen Lösung und der Menge b der verbrauchten 0,5procentigen Zuckerlösung ergiebt alsdann die Reductionsgrösse des Harnes: die x c. c. Harn (10 bis 20) reduciren (a—b) Fehling'sche Lösung oder, mit anderen Worten, so stark wie (a—b) c. c. einer 0,5procentigen Zuckerlösung.

Die gelbe Endflüssigkeit giebt mit Ferrocyankalium keinen Niederschlag, enthält also kein Kupferoxydhydrat mehr. Gelöstes Kupferoxydul war bei der weitaus grössten Anzahl der Versuche nicht, manchmal in Spuren nachzuweisen, was jedoch der Schärfe der Titrirung kaum Eintrag thut. Wenn in einzelnen Fällen bei sehr stark gefärbtem Harn die Farbenunterschiede nicht mit genügender Deutlichkeit hervortreten, so kann man das Verfahren dahin modificiren, dass man von den letzten noch schwach blaugrünen Filtraten je 1—2 c. c. im Reagensglas mit einigen Tropfen Zuckerlösung erhitzt: so lange als dabei noch gelbrothe Trübung eintritt, ist noch Kupferoxyd in Lösung und muss weiter titrirt werden. Dabei erleidet die Bestimmung durch das der Gesammtflüssigkeit entzogene Kupfersulfat einen ganz unbedeutenden Fehler.

Die Titrirung ist hinreichend scharf, um selbst zwischen aufeinander folgenden Bruchtheilen (1/5) eines c. c. Zuckerlösung die Endreaction erkennen zu lassen; indessen ist bei

den meisten der im Folgenden beschriebenen Bestimmungen auf kleinere Menge als 0,5 c. c. Zuckerlösung nicht Rücksicht genommen.

Aus einer grossen Anzahl von Titrirungen will ich folgende näher schildern:

1. 20 c. c. Fehling'sche Lösung, 80 Wasser, 20 c. c. normalen menschlichen Harns zusammen zum Kochen erhitzt, dann so lange stehen gelassen, bis die Reduction sichtbar wurde. Flüssigkeit grüngelb, lässt auf dem Filter Nichts zurück.

Darauf 4 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat trüb, gelbgrün.
Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat grünblau, fast klar.
Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat grünblau, völlig klar.
Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: Filtrat schwach, aber noch deutlich grünblau.
Noch 2 c. c. 0,5 procent. Zuckerlösung zugesetzt, zum Kochen erhitzt, filtrirt: **Filtrat hellgelb.**

Verbraucht 12 c. c. Zuckerlösung, Endreaction eingetreten zwischen 10 und 12 c. c. Zuckerlösung: durch den Harn reducirt 8 (—10) c. c. Fehling'sche Lösung.

2. Der Versuch 1 in genau gleicher Weise wiederholt, aber:

Gleich 10 c. c. Zuckerlösung zugefügt: Filtrat grünblau.
Noch 0,5 » » » » schwach grünblau.
Noch 0,5 » » » » noch ganz schwach grünblau.
Noch 0,4 » » » » **Filtrat hellgelb.**

Endreaction zwischen 11,0 und 11,4 Zuckerlösung, durch den Harn reducirt: 8,6 (—9,0) Fehling'sche Lösung.

Versuch 1 und 2 wurden je 3 Mal mit übereinstimmendem Resultat wiederholt.

3. Von dem in 1 und 2 verwendeten Harn nur 10 c. c. auf 20 Fehling:

15 c. c. Zuckerlösung zugesetzt: Filtrat grünblau.
Noch 0,5 » » » » ganz schwach grünblau.
Noch 0,2 » » » » **Filtrat hellgelb.**

Endreaction zwischen 15,5 und 15,7; durch 10 c. c. Harn werden 4,3 (—4,5) Fehling'sche Lösung, also genau halb soviel wie durch 20 Harn reducirt.

Diese Versuche, insbesondere die noch durch zahlreiche weitere Bestimmungen festgestellte Thatsache, dass bei verschiedenen Quantitäten desselben Harnes die gefundenen Reductionsgrössen sich proportional zu den Harnmengen verhalten, beweisen, dass die Titrirung constante Resultate liefert.

Die Ausführung der Methode wird indessen unmöglich, wenn die Quantität des verwendeten Harnes eine gewisse Grenze überschreitet. Man erhält dann beim Zusatz von Zuckerlösung niemals filtrirbare Flüssigkeiten. Als Maximum der Menge, bei der die Titrirung noch ausführbar ist, wurde beim menschlichen Harn im Durchschnitt — auf 20 c. c. Fehling'sche Lösung bezogen — 25 c. c., beim Hundeharn 10—12 c. c. gefunden. Es entspricht dieses Maximum ungefähr derjenigen Harnmenge, die im Stande ist, die Hälfte der gegebenen Fehling'schen Lösung zu reduciren.

Die Berechnungen ergaben, dass der normale menschliche Harn so stark wie eine 0,15—0,25procentige Traubenzuckerlösung, der Hundeharn 2—3 mal stärker reducirt. Relativ bedeutende Schwankungen wurden beim gesunden Menschen auch bei constanter Menge und specifischem Gewicht des täglich gelassenen Harns beobachtet. Von irgend welchen Aenderungen der Lebensweise, insbesondere von vermehrter oder auch völlig aufgehobener Zufuhr von Alcohol und Kohlehydraten, konnte ein Einfluss auf diese Verhältnisse nicht constatirt werden. Der Harn eines an Oesophaguscarcinom leidenden Mannes reducirte nach fünftägiger völliger Inanition so stark wie der eines Gesunden.

Bei fieberhaften Krankheiten verschiedener Art wurde eine Vermehrung der Reductionsfähigkeit des Harns um 10—20% gefunden; die Bestimmungen wurden hier in der Weise ausgeführt, dass der Harn bis zum durchschnittlichen specifischen Gewicht des normalen verdünnt und dann titrirt wurde.

II. Reductionsfähigkeit des Harnes nach Behandlung mit Schwefelsäure.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: je 50 c. c. Harn wurden nach Zusatz von 5 c. c. 25procentiger Schwefelsäure 20 Minuten lang gekocht, mit Natriumcarbonat

neutralisirt, auf das ursprüngliche Volumen gebracht, alsdann titrirt und das Resultat mit dem für den unveränderten Harn gefundenen Reductionswerth verglichen.

		Harn. c. c.	Fehling'sche Lösung. c. c.	Endreaction bei Zusatz von Zuckerlösung. c. c.	Reducirt von der Fehling'schen Lösung. c. c.	Bemerkungen
1. Hund Nr. I.	unveränderter Harn	5	15	10,5	4,5	Keine Zunahme.
	Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	5	15	10,5	4,5	
2. Hund Nr. II.	unveränderter Harn	5	20	15,0	5,0	Keine Zunahme.
	Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	5	20	15,0	5,0	
3. Hund Nr. III.	unveränderter Harn	5	20	15,5	4,5	Zunahme.
	Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	5	20	14,5	5,5	
4. Hund Nr. III. nach 3 Hungertagen	unveränderter Harn	5	20	16,0	4,0	Zunahme.
	Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	5	20	15,0	5,0	
5. Mensch Nr. I.	unveränderter Harn	20	20	14,5	5,5	Keine Zunahme.
	Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	20	14,5	5,5	
6. Mensch Nr. II.	unveränderter Harn	10	20	15,0	5,0	Keine Zunahme.
	Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	10	20	15,0	5,0	
7. Mensch Nr. III.	unveränderter Harn	20	20	13,5	6,5	Zunahme.
	Harn nach Behandlung mit Schwefelsäure	20	20	12,0	8,0	

Eine grössere Anzahl von an menschlichen Harnen ausgeführten Bestimmungen ergab dasselbe Resultat wie die citirten: nämlich dass eine Zunahme der Reductionsfähigkeit um 10—20 % in etwa 1/3 der Fälle constatirt, in 2/3 vermisst wurde.

III. Verhalten der reducirenden Substanz

1. beim Eindampfen des Harns; 2. bei der Extraction mit Alcohol und Aether; 3. beim Fällen mit Barythydrat, Blei, Phosphorwolframsäure; 4. bei der Dialyse.

1. 2 Liter Harn wurden, mit Essigsäure schwach angesäuert, erst über freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad bei möglichst hoher Temperatur, auf 200 c. c. eingeengt und wieder bis zum ursprünglichen Volumen verdünnt. Die Reductionsfähigkeit betrug jetzt kaum 1/6 der vorher am unveränderten Harn festgestellten.

2 Liter desselben Harnes wurden (ebenfalls angesäuert) in 3 sehr flachen, grossen Schalen vertheilt, auf Wasserbädern bei einer Temperatur von 60° auf 200 c. c. eingeengt. 2 c. c. der so erhaltenen Flüssigkeit, mit 18 Wasser verdünnt, reducirten 5 Fehling'sche Lösung, während 20 cbcm. des ursprünglichen Harnes 6 Fehling'sche Lösung reducirt hatten. Es wurden also durch das Eindampfen bei hoher Temperatur 5/6, bei 60° 1/6 der reducirenden Substanzen zerstört oder in der Weise verändert, dass sie ihre reducirende Eigenschaft verloren. Weitere Versuche ergaben, dass selbst beim Einengen zum Syrup die Hälfte bis 2/3 der reducirenden Substanzen erhalten blieb, wenn die Temperatur sorgfältig auf 60° erhalten wurde.

2. 1 Liter Harn wurde bei 60° zum Syrup eingedampft, dann mit 1/2 Liter 98procentigen Alcohols 24 Stunden lang extrahirt. Das Volumen der alsdann abfiltrirten Flüssigkeit betrug 527 c. c. Der Rückstand wurde mit 20 c. c. Wasser verrieben, dann 1/2 Liter Alcohol unter stetem Umrühren portionenweise langsam zugesetzt. Nach 24 Stunden wurde filtrirt, das Filtrat mit dem ersten vereinigt. Die auf diese Weise gewonnene Lösung enthielt etwa 93 % absol. Alcohol. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und titrirt: noch 1/5 der reducirenden

Substanzen, die in dem zum Syrup eingeengten Harn vorhanden gewesen waren, konnte nachgewiesen werden.

Der Versuch wurde mit etwas verdünnterem Alcohol wiederholt, so dass ein 85% absoluten Alcohols enthaltendes Extract resultirte: die ungelösten Rückstände zeigten jetzt nur noch spurenweise Reduction.

Die alcoholischen Extracte wurden zum Syrup eingedampft und in Wasser gelöst. Die so erhaltenen Lösungen reducirten sehr stark, doch konnte die Quantität der reducirenden Substanzen durch Titrirung nicht bestimmt werden, denn die Reduction verlief jetzt nach völlig anderem Typus als beim ursprünglichen Harn. Erhitzt man nämlich Fehling'sche Lösung mit einer geeigneten Menge der beschriebenen Lösung, so nimmt die Mischung schon bald nach dem Kochen eine tiefrothe Farbe an und zeigt, auch nach wiederholtem Aufkochen und Erkaltenlassen, keine Spur von Trübung oder Ausfällung. Es gelingt dann auch nicht, durch Zusatz von Zuckerlösung eine Ausscheidung von Kupferoxydul oder überhaupt eine sichtbare weitere Veränderung zu erzielen. Durch Ferricyankalium konnte nachgewiesen werden, dass eine solche tiefrothe Flüssigkeit reichlich Kupferoxydul gelöst enthielt. Zu bemerken ist noch, dass in einzelnen Fällen eine ganz leichte Trübung beobachtet wurde; wenn man dann filtrirte, bekam man ein völlig klares tiefrothes Filtrat, während auf dem Filter nur eine minimale Menge eines grauröthlichen flockigen Niederschlages zurückblieb.

Durch Ausschütteln mit Aether konnte aus den Verdampfungsrückständen der alcoholischen Extracte die reducirende Substanz nicht ausgezogen werden.

3. Fällungen mit Barythydrat und mit Blei wurden sowohl im unveränderten oder nur eingedampften Harn, als in den alcoholischen Extracten vorgenommen. Aus dem Harn selbst konnte mit Barythydrat nur ein kleiner Theil der reducirenden Substanz[1]) gefällt werden. Schüttelt man aber ein

[1]) Wenn ich von hier an des bequemeren Ausdrucks halber von Einer reducirenden Substanz im Singular spreche, so soll damit die Möglichkeit, dass es sich um mehrere derartige Körper handeln könnte, nicht in Abrede gestellt sein.

in beschriebener Weise gewonnenes Alcoholextract mit Baryt durch und zerlegt den Niederschlag mit Schwefelsäure, so erhält man eine ziemlich stark reducirende Lösung; eine quantitative Bestimmung wurde hier nicht ausgeführt.

Die Fällung mit Bleizucker, Bleiessig und Ammoniak, deren Resultate im Allgemeinen bekannt genug sind, habe ich zu dem speciellen Zwecke wiederholt, quantitativ festzustellen, wie viel von der reducirenden Substanz in den einzelnen Niederschlägen enthalten sei. Es wurden dabei nur relativ kleine Quantitäten Harn, je 2—3 Liter, verwendet, diese zuerst auf etwa 300 c. c. eingeengt, die Reductionsgrösse bestimmt und dann die Fällungen ausgeführt. Bei drei Versuchen wurde die Harnsäure vorher mit Salzsäure entfernt.

Ich bemerke hier gleich, dass die aus den Niederschlägen mit Schwefelwasserstoff oder Schwefelsäure erhaltenen Lösungen meistens nach demselben Typus, wie der normale Harn, reducirten und also die Titrirung möglich war. Eine Reduction ähnlich der bei den Alcoholextracten beschriebenen wurde 2 mal beim Bleiessigniederschlag, mehrmals beim Ammoniakniederschlag beobachtet. Die Bestimmungen lieferten bei den einzelnen Versuchen etwas abweichende Resultate; ich gebe hier die durchschnittlichen Werthe wieder. Von der reducirenden Substanz wurde gefunden:

1. Nach Ausfällung mit Bleizucker:	im Niederschlag	(I) 15%,	im Filtrat	(a) 60%.
2. Nach Ausfällung des Filtr. a mit Bleiessig:	» »	(II) 20%,	» »	(b) 15%.
3. Nach Ausfäll. d. Filtrat. b m. Ammoniak.	» »	(III) 10%,	» »	(c) nur noch Spuren.

Total in allen Niederschlägen 45%.
Verschwunden . . . . . . 55%.

Der Niederschlag II zeigte bei den Versuchen, wo die Harnsäure nicht vorher entfernt war, etwas stärkere Reduction.

Die Eigenthümlichkeit der reducirenden Substanz des Harnes, Fehling'sche Lösung in eine tiefrothe, Kupferoxydul reichlich gelöst enthaltende, Flüssigkeit zu verwandeln, trat

nach den gemachten Angaben um so schärfer hervor, je mehr sie von den übrigen Harnbestandtheilen abgetrennt wurde. Es legt das die Vermuthung nahe, dass es sich um einen Körper handle, welcher die Fähigkeiten, Kupferoxyd zu reduciren, und Kupferoxydul in Lösung zu halten, in sich vereinigt. Sollte es sich dennoch herausstellen, dass im Harn einerseits Kupferoxyd reducirende und anderseits Kupferoxydul lösende Substanzen anzunehmen sind, so spielt jedenfalls unter den letzteren das Kreatinin, trotzdem es Kupferoxydul sicher zu lösen vermag, nicht eine so hervorragende Rolle, wie Worm-Müller[1]) annimmt. Zum Beweis folgender Versuch: ½ Liter Harn, mit Schwefelsäure stark angesäuert, wurde mit Phosphorwolframsäure genau ausgefällt (nach den Angaben von Hofmeister[2]) wird dabei das Kreatinin und Xanthin völlig ausgeschieden), dann filtrirt, mit Baryumcarbonat umgeschüttelt, mit Barythydrat bis zur alcalischen Reaction versetzt, alsdann ein Kohlensäurestrom bis zur Ausfällung des überschüssigen Baryts durchgeleitet und wieder filtrirt. Das eingeengte Filtrat reducirte schwächer als der ursprüngliche Harn, aber immer noch ziemlich stark und zwar exquisit in der Weise wie das Alcoholextract.

4. Versuche mit dem Dialysator ergaben, dass aus dem auf ¼ seines Volumens eingedampften Harn (½ Liter) die reducirende Substanz in 48 Stunden durch Diffusion mit Wasser vollständig entfernt werden konnte. Dass dabei keine Zersetzung derselben stattgefunden hatte, bewies die quantitative Bestimmung der im Diffusat befindlichen reducirenden Substanz. Die Reduction verlief hier genau wie beim unveränderten Harn.

IV.

Ich gehe zu Versuchen über, deren Zusammenhang mit den vorstehenden später erörtert werden soll; sie thun dar, dass man durch Behandlung des zum Syrup eingedampften Harns mit oxydirenden Körpern eine

---

1) L. cit.

2) Zeitsch. für physiol. Chemie, Bd. V, S. 67.

flüchtige Substanz erhält, welche die Reactionen des Acetons giebt. Zu diesem Nachweis wurden benutzt: die Lieben'sche, Legal'sche und Le Nobel'sche Reaction.

Zunächst muss hier etwas näher auf diese Reactionen eingegangen werden. Die Lieben'sche Reaction ist so vielen organischen Substanzen eigenthümlich, dass sie für den Nachweis von Aceton nur einen bedingten Werth hat.

Von grösserer Bedeutung sind in dieser Beziehung die Legal'sche und Le Nobel'sche Reaction. Die Eigenschaft, Nitroprussidnatriumlösung bei Zusatz von Kali- oder Natronlauge rubinroth zu färben, besitzen ausser Aceton noch Aldehyd und Acetessigäther; ferner Kreatinin, welches aber nicht mit den Wasserdämpfen destillirbar ist und deshalb bei den zu beschreibenden Versuchen nicht in Frage kommt, und Phenol, Paracresol und ähnliche Substanzen, auf die ich später noch zurückkommen werde.

Aceton, Aldehyd und Acetessigäther verhalten sich gegen die genannten Reagentien so verschieden, dass sie mit ihrer Hülfe sicher von einander zu unterscheiden sind.

Aceton in sehr verdünnter Lösung giebt mit Nitroprussidnatrium und Aetzalcalien eine gelbrothe, oft auch an's Braunrothe streifende, in stärkerer Lösung eine intensiv rubinrothe Farbe, die bei Zusatz von Essigsäure in dem Moment, wo die Reaction sauer wird, in violett oder rosaviolett umschlägt. Die durch Aldehyd hervorgerufene Farbe ist carminroth und verändert ihre Qualität beim Zufügen von Essigsäure nicht. Diese durch Essigsäure bewirkte plötzliche Umwandlung der Farbe, die auch bei Acetessigäther nicht zu beobachten ist, charakterisirt das Aceton in sehr scharfer Weise.

Noch charakteristischer, aber weniger empfindlich, ist die von Le Nobel[1]) angegebene Reaction mit Nitroprussidnatrium, Ammoniak und 1 Tropfen Essigsäure. Eine acetonhaltige Flüssigkeit nimmt bei Zusatz dieser Reagentien eine ganz allmählich eintretende rosaviolette Farbe an, die das Maximum der Intensität nach 8—10 Minuten erreicht und

---

[1]) Archiv für experiment. Pathologie, Bd. XVIII.

dann wieder verblasst. Le Nobel giebt an, dass eine ähnliche Reaction durch Aldehyd gar nicht hervorgerufen werde; zahlreiche von mir gemachte Versuche haben dasselbe sowohl für Aldehyd als eine Anzahl aldehydähnlicher Körper ergeben: sie geben mit Nitroprussidnatrium, Ammoniak und 1 Tropfen Essigsäure keine Farbenreaction. Acetessigäther verhält sich gegen Nitroprussidnatrium und Ammoniak genau so wie gegen Nitroprussidnatrium und Natronlauge; es ist demnach die Nobel'sche Reaction, so viel bekannt, nur dem Aceton eigenthümlich (ausserdem dem Paracresol, s. später) und deshalb für den Nachweis dieses Körpers ausserordentlich geeignet.

Ich beschreibe nun meine Versuche über Oxydation des Harnsyrups. 1/2 Liter normalen menschlichen Harns wurde bei 60° zum Syrup eingeengt, dann nach Zusatz von Kaliumbichromat und Schwefelsäure [1]) zum Sieden erhitzt und ungefähr 1/6 der Flüssigkeit abdestillirt. Das Destillat besass einen eigenthümlichen aromatischen, nicht deutlich an Aceton erinnernden Geruch; es gab:

1. Lieben'sche Probe: sehr intensiv.

2. Legal'sche: deutlich, meist ziemlich intensiv, stets mit dem charakteristischen Umschlag in's Rosaviolette.

3. Le Nobel'sche: in etwa 1/3 der Fälle — die Harne von 20 gesunden Menschen wurden in obiger Weise behandelt — nicht sicher erkennbar, in etwa 2/3 schwach, aber in typischer Weise.

4. Reynold-Gunning'sche (Auflösung von Quecksilberoxyd in alcalischer Lösung): nie.

Der Versuch wurde wiederholt: 6 mal mit Harn von Individuen, die 5 Tage lang keinen Zucker und keinen Alcohol genossen hatten; 2 mal mit Harn von einem Magenkranken, der reine Fleischdiät bekam; 5 mal mit Harn, der 3 Tage

---

[1]) Die bei diesen und den folgenden Versuchen benutzte Mischung enthielt 5 Theile concentrirter Schwefelsänre auf 7 Theile Kaliumbichromat.

lang mit Hefe behandelt und dann erst eingedampft war: das Resultat blieb immer dasselbe.

Um Phenol, Paracresol etc., die nach v. Jaksch[1]) die Legal'sche und Le Nobel'sche Reaction auch geben, sicher ausschliessen zu können, habe ich wiederholt den Harn unter Zusatz einer geringen Menge Schwefelsäure eingedampft, dann zu dem Syrup noch mehr Schwefelsäure zugesetzt und abdestillirt: in dem Destillat war keine Spur der obigen Reactionen nachzuweisen, dagegen deutliche Reactionen, wenn man jetzt die der Schwefelsäure aequivalente Menge von Kaliumbichromat zusetzte und wieder destillirte. Dieser Versuch beweist, dass überhaupt kein präformirter Harnbestandtheil die Ursache der betreffenden Reactionen sein könne.

Es existirt demnach im normalen menschlichen Harn eine Substanz, die bei der Oxydation mit Chromsäure einen flüchtigen Körper liefert, welcher die Lieben'sche Reaction, ferner die Legal'sche und Le Nobel'sche in der für Aceton characteristischen Weise giebt. Ich möchte die Behauptung als wahrscheinlich aufstellen, dass dieser Körper in der That Aceton sei. Da er in nur geringer Menge auftritt, ist bis jetzt eine Siedepunktsbestimmung nicht gelungen; fernere Versuche sollen zu diesem Zweck mit grossen Harnquantitäten noch ausgeführt werden. Auffällig ist immerhin das Fehlen der Reynold-Gunning'schen Reaction, die nach v. Jaksch und Le Nobel sehr empfindlich ist.

Bei den im Abschnitt I. beschriebenen Versuchen, bei der Alcoholextraction, Dialyse, Fällung mit Blei, Barythydrat, Phosphorwolframsäure habe ich neben dem Verhalten der reducirenden Substanz stets auch dasjenige des Acetonreactionen liefernden Körpers geprüft. Es ergab sich, dass überall da, wo starke Reduction gefunden wurde, bei der Oxydation deutliche, da, wo die Reduction schwach war oder fehlte, undeutliche oder keine Acetonreactionen constatirt werden konnten.

---

[1]) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. VIII, S. 115.

Eine Identität der reducirenden Substanz und der Acetonreactionen liefernden ist demnach als nicht unwahrscheinlich zu bezeichnen.

Dass auch die Glycuronsäure bei der Oxydation Aceton producirt, beweist Folgendes: 1. 2,0 urochloralsaures Kalium gaben bei der Oxydation mit Chromsäure ein deutlich nach Aceton riechendes und intensive Acetonreactionen zeigendes Destillat. Dass die Reactionen es ermöglichen, Verwechslung mit etwa aus dem Trichloräthylalcohol entstehendem Aldehyd auszuschliessen, ist oben auseinandergesetzt. 2. Harn von einem Menschen, der 3 gr. Campher in 12 Stunden zu sich genommen hatte, wurde eingedampft und dann mit Chromsäure behandelt: das Destillat gab weit intensivere Acetonreactionen als ein nach genau gleichem Verfahren aus einem gleichen Volumen normalen Harnes (von demselben Individuum) gewonnenes. 3. Das Ergebniss der Oxydation des glycuronsauren Baryt's, s. S. 31 dieser Arbeit.

Wenn ich nun die Resultate der mitgetheilten Untersuchungen zusammenfasse, so kann von der reducirenden Substanz des normalen Harnes Folgendes zum Theil als sicher, zum Theil als wahrscheinlich ausgesagt werden:

1. Sie wird durch Eindampfen bei hoher Temperatur (90—100°) zum grossen Theil, bei niedriger Temperatur (60°) nur zu einem kleinen Theil zerstört.

2. Sie ist in Alcohol löslich, in Aether unlöslich.

3. Sie wird durch Barythydrat nur zu einem kleinen Theil gefällt; ferner ist sie durch Bleizucker, und noch etwas mehr durch Bleiessig, theilweise fällbar; mehr als die Hälfte wird bei der Bleifällung oder bei der weiteren Behandlung der Niederschläge zerstört.

4. Sie vereinigt die Fähigkeit, Kupferoxyd zu reduciren, mit der, Kupferoxydul zu lösen.

5. Sie ist dialysirbar.

6. Sie liefert bei der Oxydation Aceton.

Diese sämmtlichen Eigenthümlichkeiten der reducirenden Substanz, mit alleiniger scheinbarer Ausnahme der vierten,

lassen sich mit der Annahme, dass sie eine Glycuronsäureverbindung sei, gut vereinigen und machen sie bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich. Wenn wir uns nach weiteren Beweismomenten umsehen, so ist noch zu erwähnen:

1. Die reducirende Substanz des Harns wirkt auf Kupferoxydhydrat bedeutend langsamer ein als Zucker. Ebenso verhalten sich die Glycuronsäureverbindungen. Urochloralsaures Kalium z. B. muss man mit Kupferoxydhydrat in alcalischer Lösung $^3/_4$—1 Minute lang kochen und dann noch etwas abkühlen lassen, bis völlige Reduction eingetreten ist. (Die freie Glycuronsäure dagegen reducirt sehr rasch.)

2. Die Glycuronsäureverbindungen drehen die Polarisationsebene nach links, die freie Säure nach rechts. Linksdrehung haben an einer grossen Zahl normaler Harne Haas[1]) und neuerdings E. Külz[2]) nachgewiesen. Rechtsdrehung haben Bence Jones, Abeles u. a. an den aus Bleiessig-Ammoniakniederschlägen des Harnes gewonnenen Lösungen beobachtet. Dieser scheinbare Widerspruch liesse sich vorzüglich mit der Annahme vereinbaren, dass der Harn eine linksdrehende Glycuronsäureverbindung enthalte, aus der dann bei der Bleifällung und den damit verbundenen Manipulationen die rechtsdrehende Glycuronsäure frei werde. Warum die erwähnte Rechtsdrehung nicht auf Zucker zu beziehen sei, habe ich oben (S. 9 ff.) auseinandergesetzt[3]).

Auch die in 4. angegebene Fähigkeit der reducirenden Substanz widerspricht der Möglichkeit, dass sie eine Glycuronsäureverbindung sei, nicht direct. Dieses Vermögen, Kupfer-

---

[1]) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaft, 1876, S. 149.

[2]) Zeitschrift für Biologie, 1884, S. 165.

[3]) Es darf nicht unerwähnt bleiben, dass auch Rechtsdrehung des normalen Harnes angegeben worden ist: Bornträger, Archiv für Pharmacie, Bd. XVII, S. 118. — Alle die angeführten Beobachtungen über Drehung der Ebene des polarisirten Lichtes nach links oder nach rechts können freilich nur zum Theil verwendet werden, weil einzelne davon unterhalb der von Seegen angegebenen Fehlergrenze bleiben; doch lassen die neueren Circumpolarisationsapparate eine viel genauere Bestimmung zu, als die von Soleil-Ventzke.

oxydul in Lösung zu halten, kommt, soviel bekannt ist, nur stickstoffhaltigen Körpern, z. B. dem Kreatinin, und überhaupt Amidoverbindungen zu; dass aber die Glycuronsäure auch stickstoffhaltige Verbindungen eingeht und in Form solcher mit dem Organismus einverleibten Stoffen sich paart, beweisen die von Schmiedeberg nachgewiesene Uramidocamphoglycuronsäure und Jaffe's Harnstoffverbindung der Uronitrotoluolsäure. Eine Amido- oder Harnstoffverbindung dre Glycuronsäure dürften wir demgemäss vielleicht auch in der reducirenden Substanz des normalen Harnes vermuthen.

Weiterhin sind dann noch zwei Momente von Bedeutung für die angedeuteten Hypothesen. Nämlich a) das Vorkommen von Aceton (und vielleicht auch Glycuronsäure) im diabetischen Harn; b) die physiologische und febrile Acetonurie. Dass der normale Harn bei der Destillation einen Jodoformreaction gebenden Körper liefere, hat schon Lieben[1]) entdeckt. v. Jaksch[2]) hat eine umfassende Reihe von Untersuchungen angestellt, die es sehr wahrscheinlich machen, dass dieser Körper Aceton sei, dass Aceton in ganz geringen Mengen als normales Stoffwechselproduct im Harn enthalten sei (bis 0,01 gr. in der Tagesmenge). Sicher nachgewiesen ist jedenfalls, dass bei durch febris continua gesteigertem Stoffwechsel Aceton in nicht unbeträchtlicher Quantität — bis 0,5 gr. in 24 Stunden — ausgeschieden wird. Den exacten Beweis dafür hat v. Jaksch, abgesehen von den Acetonreactionen, durch eine Siedepunktsbestimmung mit Hülfe fractionirter Destillation erbracht. Auch Le Nobel[3]) hat diese febrile Acetonurie bestätigt, möchte sie aber aus vermehrter Alcoholzufuhr erklären. Abgesehen davon, dass v. Jaksch bei einer Anzahl seiner Versuche den Alcohol sicher ausgeschlossen hat, ist eine Entstehung von Aceton aus (Aethyl-) Alcohol nicht denkbar; Aceton wird, abgesehen von der Essigsäure, nur aus Körpern mit 3 oder mehr Kohlenstoffatomen gebildet.

---

1) Archiv für Chemie und Pharmacie, Supplementband VII, S. 218.

2) Zeitschrift für klinische Mehicin, Bd. VI, S. 355, Bd. VIII, S. 115. — Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VI, S. 54.

3) L. cit.

Die zahlreichen Angaben in der Literatur, wonach Aceton bei der Oxydation von Zucker und einer Reihe anderer Kohlehydrate erhalten wurde, weisen auf derartige Substanzen, insbesondere Zucker, als Quelle seiner Entstehung im Organismus hin; in diesem Sinne möge hier der Acetonurie gedacht sein.

Die angedeuteten Hypothesen dürften in der Formel zusammengefasst werden, dass die reducirende Substanz des normalen Harnes eine, aus dem Traubenzucker des Blutes stammende, mit einem stickstoffhaltigen Stoffwechselproduct verbundene Glycuronsäure sei, und dass aus dieser das im physiologischen und pathologischen Stoffwechsel vorkommende Aceton herrühre.

Herr Professor Dr. Hoppe-Seyler machte mich beim Beginn meiner Untersuchungen darauf aufmerksam, dass eine Spaltung der Glycuronsäure nach der Formel:

$$\underset{\text{Glycuronsäure}}{C^6H^{10}O^7} = \underset{\text{Kohlensäure}}{CO^2} + \underset{\text{Ameisensäure}}{CH^2O^2} + \underset{\text{Oxybuttersäure}}{C^4H^8O^3}$$

denkbar sei. Der von Minkowski[1]) und Külz[2]) gelieferte Nachweis der Oxybuttersäure im diabetischen Harn legte es von Neuem nahe, zu untersuchen, ob die Oxybuttersäure als Spaltungsproduct der Glycuronsäure nachgewiesen und dann in den Zusammenhang zwischen Zucker, Glycuronsäure, Aceton hineingezogen werden könne; dass sie bei der Oxydation auch Aceton liefere, giebt Minkowski in seiner Arbeit S. 10 an.

Schmiedeberg und Meyer haben bei der Oxydation der (Campho-) Glycuronsäure mit Chromsäure oder Salpetersäure als Oxydationsproducte der Glycuronsäure Kohlensäure und Ameisensäure gefunden. Um festzustellen 1. ob auch bei Zerlegung der Glycuronsäure mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure Kohlensäure und Ameisensäure als Spaltungsproducte nachzuweisen seien und 2. ob dabei ausserdem Oxybuttersäure oder sonst noch eine Säure ent-

---

1) Archiv für experiment. Pathologie, Bd. XVIII, S. 4.

2) Zeitschrift für Biologie, 1884, S. 165.

stehe, habe ich eine Anzahl von Spaltungsversuchen angestellt, die hier noch kurz berührt sein mögen.

Zu diesem Zweck stellte ich mir urochloralsaures Kalium nach den v. Mering gegebenen Vorschriften dar. Von diesem Salz wurden 20 gr. mit 5procentiger Schwefelsäure am Rückflusskühler (mit einem Barytwasser enthaltenden vorgelegten Kolben) 3 Stunden lang gekocht und dann so lange abdestillirt, als Säure überging. Als Spaltungsproducte wurden erhalten: 1. Kohlensäure, 2. Ameisensäure, deren Barytsalz analysirt wurde.

Bei einer Wiederholung des Versuches nahm ein dem Rückflusskühler vorgelegter mit destillirtem Wasser gefüllter Kolben in geringer Menge einen Körper auf, der deutliche Acetonreactionen (Lieben'sche, Legal'sche, Le Nobel'sche) gab. Beim nachher vorgenommenen Abdestilliren konnten im Destillat diese Reactionen nicht mehr constatirt werden. Es schienen sich also nur Spuren von Aceton gebildet zu haben. Dass bei der Oxydation der Urochloralsäure Aceton nachgewiesen wurde, ist oben erwähnt.

Zur Darstellung von Glycuronsäure wurde eine kleinere Quantität von urochloralsaurem Kalium mit 5procentiger Schwefelsäure 2 Stunden lang am Rückflusskühler im Sieden erhalten, nach dem Erkalten die Flüssigkeit mit Barytwasser alcalisch gemacht, Kohlensäure durchgeleitet, dann filtrirt. Das Filtrat wurde bei gelinder Wärme auf ein kleines Volumen eingedampft und wieder filtrirt, aus dem Filtrat die Glycuronsäure durch Zusatz von Barytwasser als basisches Barytsalz gefällt und wiederholt mit Barytwasser ausgewaschen. Von dem auf diese Weise erhaltenen reinen basischen glycuronsauren Baryt lieferte schon eine ganz geringe Menge bei der Oxydation mit Chromsäure ein nach Aceton riechendes Destillat, welches Legal'sche und Lieben'sche Reaction gab.

Es wurde dann weiter bei anderen Versuchen längere Zeit (10—12 Stunden) erhitzt, um womöglich die Urochloralsäure und Glycuronsäure vollständig zu zersetzen. Darauf wurde so lang abdestillirt, als Säure überging; die zurückgebliebene Flüssigkeit mit kohlensaurem Baryt und Baryt-

wasser genau neutralisirt, eingedampft, stark angesäuert (mit Schwefelsäure) und mit Aether ausgezogen. Aus dem stark sauer reagirenden Aetherextract wurde durch Umkrystallisiren aus absolutem Alcohol das Natriumsalz einer Säure dargestellt, die nur noch minimale Spuren von Chlor (beigemengte Urochloralsäure) enthielt. Die Quantität war so klein, dass eine Analyse bis jetzt nicht ausgeführt werden konnte. Immerhin wird dadurch wahrscheinlich, dass bei der Spaltung der Glycuronsäure ausser der Ameisensäure noch eine mit den Wasserdämpfen nicht flüchtige Säure entstehe. Weitere Versuche in dieser Richtung konnten für den Augenblick nicht angestellt werden, weil der Vorrath an Urochloralsäure verbraucht war.

Wenn meine Arbeit manches Hypothetische enthält, so liegt das in der Natur des Gegenstandes. Bei dem grossen physiologischen Interesse, welches sich an die reducirende Substanz des Harnes und die im Stoffwechsel ihr zukommende Rolle knüpft, dürften die erhaltenen Resultate der Mittheilung werth erscheinen.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Hoppe-Seyler, für die Anregung und vielfachen Rathschläge, welche er mir bei dieser Arbeit zu Theil werden liess, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Nachtrag zu den Untersuchungen über die Kupferoxyd reducirenden Substanzen des normalen Harnes.

Von

M. Flückiger.

(Der Redaktion zugegangen am 27. Februar 1885.)

Im Anschluss an die Seite 345 und 346 beschriebenen Versuche muss ich noch mittheilen, dass es jetzt gelungen ist, den Siedepunkt des bei der Oxydation des eingedampften Harnes entstehenden Körpers zu bestimmen und dadurch seine Identität mit Aceton festzustellen.

Zu diesem Zwecke wurden 13 Liter normalen zuckerfreien Harnes (von zwei gesunden Individuen stammend) bei 60° stark eingedampft, der Harnstoff mit Oxalsäure ausgefällt, das Filtrat mit Kalkmilch versetzt und wieder filtrirt, sodann mit Schwefelsäure bis zu ziemlich stark saurer Reaktion versetzt, filtrirt und auf 1 Liter eingeengt (wieder bei einer Temperatur von 60°). Die so erhaltene Flüssigkeit wurde mit einer Lösung von 51 gr. Kaliumbichromat und 77 gr. conc. Schwefelsäure zum Kochen erhitzt, 300 c. c. abdestillirt und in dem von Le Bel und Henninger construirten Apparat (siehe Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1874, S. 1084) der fraktionirten Destillation unterworfen. Zwischen 55° und 60° gingen 2 c. c. einer Flüssigkeit von starkem Acetongeruch über, welche Lieben'sche, Legal'sche und Le Nobel'sche und jetzt auch Reynold-Gunning'sche Reaktion sehr intensiv gab.

Es ist dadurch erwiesen, dass die betreffende Substanz Aceton ist.

Erwiderung.

Von

F. Biedert in Hagenau i. E.

(Der Redaktion zugegangen am 24. Januar 1885.)

In einem kurzen Artikel über die Eiweisskörper der Menschenmilch sind auf Seite 223 des IX. Bandes (2. Heft) dieser Zeitschrift Simon, Lehmann und Tolmatscheff als meine Vorgänger in einer Weise genannt, die vermuthen lässt, als ob dies von meiner Seite nicht geschehen sei. Dem gegenüber muss ich hervorheben, dass ich keineswegs die «Nichtfällbarkeit der Menschenmilch durch Säure» wie Herr Hoppe-Seyler dort angiebt, einfach als «neue Entdeckung» beschrieben, vielmehr nicht nur die Leistungen der genannten Autoren, sondern auch einer grossen Reihe von anderen noch früheren, beginnend fast in der Mitte des vorigen Jahrhunderts, sowohl in meinen ersten Arbeiten, als in den beiden von Herrn Hoppe-Seyler speciell angeführten, mit gewissenhafter Genauigkeit erwähnt habe. Die schöne Arbeit von Simon habe ich sogar (besonders in Virchow's Archiv, Bd. LX) mit gebührender Bewunderung gewürdigt.

Ich kann bezüglich dessen auf meine in untenstehender Anmerkung[1]) citirten Arbeiten, insbesondere die zweite aus dem Jahre 1884 ebenso beruhigt verweisen, wie bezüglich der Bedeutung der zuerst von mir beweiskräftig aufgestellten[2]) und in ihrer Tragweite für die verschiedene Rolle der Kuh- und Menschenmilch bei der Ernährung gewürdigten Lehre von der chemischen Verschiedenheit ihrer Eiweisskörper. Das Aufsehen, das diese Lehre hervorrief, sowie die Anerkennung, die sie sofort, erst ganz neuerdings aber

[1]) 1. Die Kinderernährung im Säuglingsalter, Stuttgart 1880 und 2. Untersuchnngen über die chemischen Unterschiede der Menschen- und Kuhmilch, 2. Ausg., Stuttgart 1884.

[2]) Ganz neuerdings von anderem Standpunkt aus wieder bestätigt von E. Pfeiffer in den «Mittheilungen aus der chemischen Versuchsstation zu Wiesbaden.»

immer mehr auch bei den reinen Fachgelehrten fand (so auch in Hermann's grossem Handbuch), endlich die Darstellungen des Sachverhaltes durch sachkundige Andere, wie E. Pfeiffer, (im Jahresbuch für Kinderheilkunde, N. F., Bd. XIX), dienen meiner Darstellung, auf die ich die Leser in dieser Hinsicht nochmals verweise, in jeder Beziehung als Bestätigung. Wenn Herr Hoppe-Seyler der allgemeinen wohlwollenden Beurtheilung meiner Arbeiten sich nicht anzuschliessen geneigt ist, so bedauere ich das um so lebhafter, als ich für freundliche Aufnahme in seinem Laboratorium ihm persönlich verpflichtet bin. Um so angenehmer ist es mir zugleich, dass für meine Vertheidigung gegen ihn jener einfache Hinweis genügt.

Noch kürzer kann ich die schwefelsaure Magnesia erledigen, deren Vermögen zur Fällung der Menschenmilch für meine Studien ganz nebensächlich und nur beiläufig (im Kleindruck) erwähnt ist. Obwohl ich damit 2mal (1869 und 1873—74) vergebens jene Fällung versucht habe, bin ich doch bereit, eine solche auf die einfache Autorität von Herrn Hoppe-Seyler hin zuzugeben, wenn er — was er übrigens bis jetzt nicht gethan hat — angibt, dass eine solche sicher mit unmittelbarer deutlicher Abscheidung (auch nur einigermassen dem Vorgang in der Kuhmilch vergleichbar) wahrzunehmen ist. In der in meinem Besitz befindlichen 4. Auflage seiner «Analyse» (Berlin 1875) empfiehlt Herr Hoppe-Seyler ein von dem Tolmatscheff'schen sehr verschiedenes, nicht auf einfacher Sättigung beruhendes Verfahren mit der schwefelsauren Magnesia und bezeichnet dieses als «leichter ausführbar und sicherer, als das von Tolmatscheff befolgte» (S. 441, Z. 13-14). Er schenkt damit indirekt, gerade wie ich, dem letzteren «wenig Vertrauen.» Ich werde übrigens nicht verfehlen, neue Versuche anzustellen und gelegentlich offen zuzugestehen, falls diese ein dem von Tolmatscheff und Makris ähnliches Resultat haben sollten. Einstweilen scheinen mir deren Beschreibungen ihrer Fällungen unsicher; ich stelle Anderen anheim, dies in den Originalmittheilungen derselben anders zu finden.

Physiologisch-chemische Literaturübersicht

Zusammengestellt

von

Dr. E. HERTER.

Archiv für pathologische Anatomie.

Bd. 88, H. 3 bis Bd. 90, H. 3.

Ponfick, E. Ueber die Gemeingefährlichkeit der essbaren Morchel, Bd. 88, S. 445.

Proiss, Otto. Weitere Beiträge zur Erkenntniss der Durchströmbarkeit des Zellenmaterials selbst, Bd, 89, S. 17.

Baginsky, Adolf. Untersuchungen über den Darmkanal des menschlichen Kindes, S. 64.

v. Hœsslin, H. Experimentelle Beiträge zur Frage der Ernährung fiebernder Kranker, S. 95, 303.

Bardeleben, Carl. Die Einwirkung von Kali- und Natronsalzen auf die Muskeln des menschlichen Darmes, S. 190.

Salkowski, E. Berichtigung zu der Abhandlung: «Notiz zur chemischen Kenntniss» etc. in Bd. 88, S. 394 dieses Archives, S. 192.

Vallat, Maximin. Ueber fibrinöse oder hyaline Degeneration im Tuberkel und Gummi, S. 193.

Magaard, H. Ueber das Secret und die Secretion der menschlichen Thränendrüse, S. 258.

Hoffmann, F. A. Ueber das Verhältniss zwischen Serumalbumin und Globulin im eiweissführenden Harn, S. 271.

Kempner, G. Ueber den Einfluss mässiger Sauerstoffverarmung der Einathmungsluft auf den Sauerstoffverbrauch der Warmblüter, S. 290.

v. Hœsslin, H. Ueber den Einfluss der Nahrungszufuhr auf Stoff- und Kraftwechsel, S. 333.

Havelburg, W. Ueber Filaria sanguinis und Chylurie, S. 365.

Virchow, Rud. Ueber kanalisirtes Fibrin und Hyalin, S. 382.

Hofmeier, M. Beitrag zur Lehre vom Stoffwechsel der Neugeborenen und seine Beeinflussung durch die Narcose der Kreissenden, S. 493.

Schuberg, Friedrich. Beiträge zur Kenntniss der Entstehung, des inneren Baues und der chemischen Zusammensetzung von Kothsteinen, Bd. 90, S. 73.

Lehmann, Julius. Berichtigung, betreffend das Globulin im Eiweissharn, S. 212.
Bizzozero, Julius. Ueber einen neuen Formbestandtheil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung, S. 261.
Ewald, C. A. Ueber den «Coefficient de partage» und über das Vorkommen von Milchsäure und Leucin im Magen, S. 333.
Zur Nieden, Paul. Ueber einen Fall von Lymphangiectasie mit Lymphorhagie, S. 350.
Stolnikow, S. Beitrag zur Lehre von der Function des Pankreas im Fieber, S. 389.
Maier, Rudolf. Experimentelle Studien über Bleivergiftung, S. 455.
Nasaroff. Einige Versuche über künstliche Abkühlung und Erwärmung kaltblütiger Thiere, S. 482.

Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.
Bd. XV.

Jlawitzky, F. Das molekulare Brechungsvermögen der Terpene, S. 15.
Fischer, Emil. Ueber das Caffeïn, S. 29.
Kiliani, Heinrich. Ueber arabisches Gummi, S. 34.
Schwanert, H. Vorkommen grosser Krystalle von Ammon-Magnesiumphosphat in einem etwa 100 Jahre alten Harn, S. 37.
Baeyer, Adolf. Ueber die Verbindungen der Indigogruppe, S. 50, 775.
Fischer, Otto. Ueber Nikotinsäure aus Pyridin, S. 62.
Schulze, K. E. Phoron aus Glycerin, S. 64.
Mulder, E. Beitrag zur Kenntniss von Normalcyansäure und Derivaten, S. 69.
Reinke, J. Die reducirenden Eigenschaften lebender Zellen, S. 107.
Ladenburg, A. Zur Geschichte des Atropins, S 133.
Kiliani, Heinrich. Darstellung von Milchsäure, S. 136.
Gantter, Fr. und Hell, C. Ueber Bromsubstitutionsprodukte der Korksäure, S. 142.
Haas, B. Die Bestimmung der schwefligen Säure im Weine, S. 154.
Menschutkin. Ueber die Aetherificirung der Oxysäuren, S. 162.
Widmann, Oskar. Ueber eine Synthese von Thymol aus Cuminol, S. 166.
König, F. Darstellung der Bernsteinsäure aus Weinsäure durch Gährung, S. 172.
Fœrster, P. Zur Identitätsfrage der Farbstoffe der chinesischen Goldbeeren, der Kapern und der Raute mit dem Quercitrin und Quercetin, S. 214.
Traube, Moritz. Ueber Aktivirung des Sauerstoffs, S. 222, 2421, 2434.
Fœrster, K. Ursache der Jörissen'schen Reaktion auf Fuselöl, S. 230.
Merling, G. Ueber Tropin, S. 287.

Zur Lehre von der Resorption des Fettes.

Von

Dr. Herm. Ad. Landwehr.

(Der Redaktion zugegangen am 30. Januar 1885)

Die Resorption der Fette geht im Dünndarm vor sich, der Magen hat keinen direkten Antheil daran, soweit herrscht Uebereinsstimmung bei den Autoren. Welche Secrete aber die Aufnahme bewirken, darüber gehen die Ansichten trotz der zahlreichen Arbeiten noch auseinander. Ein eigentlicher Verdauungssaft des Darmes selbst wird wohl jetzt nach Hoppe-Seyler's Vorgang allgemein geleugnet und der sogenannte Darmsaft als ein durch den Entzündungsreiz der Operation erzeugter pathologischer Erguss aufgefasst. Jedenfalls hat man nie einen Einfluss der aus ausgeschalteten Darmschlingen gewonnenen Flüssigkeit auf Fette nachgewiesen. So lag es denn nahe, dass man immer wieder die von aussen in den Darm gelangenden Secrete, die Galle und den Pancreassaft, für diese Funktion in's Auge fasste.

Albrecht von Haller behauptete schon, dass die Galle die fetten Nahrungsstoffe auflöse und mit ihnen eine Emulsion hervorbringe. Brodie war der erste, der durch Versuche an Katzen nachwies, dass nach Ausschaltung der Galle vom Darmkanal — er unterband den duct. choledochus — die Fettresorption sehr erschwert sei. Er fand bei den getödteten Thieren in den Chylusgefässen keine milch-weisse, sondern eine wasserklare Flüssigkeit. Tiedemann und Gmelin[1]) bestätigten diese Angaben für den Hund. Sie

[1]) Die Verdauung nach Versuchen 1826, Bd. II, S. 24.

erhielten 4—8 Stunden nach der Unterbindung einen hellen, durchscheinenden und gelbgefärbten Chylus. Bei Wiederholung der Brodie'schen Versuche fand jedoch Magendie[1]), dass trotz der Unterbindung der Gallengänge etwas milchweisser Chylus bei Fettfütterung immer gebildet werde, wenn auch lange nicht in dem Masse als ohne Unterbindung. Unter Bidder's und Schmidt's[2]) Leitung wurden dann von Lenz an Hunden mit Gallenblasenfisteln Versuche angestellt, die evident nachwiesen, dass zwar auch ohne Zuthun der Galle Fett aus den Nahrungsmitteln aufgenommen werden kann, die Resorption aber ohne Galle doch sehr erschwert ist. Von 180 gr. Fett wurden in einem Falle innerhalb acht Tagen nur 95 gr. (52,8%) resorbirt und 85,0 gr. im Kothe wieder ausgeschieden, bei einem weiteren Versuche wurden in fünf Tagen nur 41,4 gr. resorbirt und 72,2 gr. im Kothe wiedergefunden. Auch Voit[3]) kommt am Schlusse seiner Abhandlung zu dem Resultat, dass auch ohne die Mitwirkung der Galle Fett zur Aufsaugung gelangt (bis 60% werden nicht resorbirt), die Galle aber doch das Hauptmittel bei der Resorption grösserer Fettmengen ist (99% werden im normalen Zustande resorbirt), und die übrigen Verdauungssäfte wie der pancreatische Saft dagegen zurücktreten. Röhmann[4]) kommt nach seinen Versuchen zu denselben Schlussfolgerungen.

Dass also ein Einfluss der Galle auf die Fettresorption bestehe, darüber sind sich alle Forscher einig, wie aber die Aufsaugung durch sie bewirkt wird, darüber fehlt noch eine plausible Vorstellung.

Seit Haller hat man der Galle wiederholt die Fähigkeit zugeschrieben, emulgirend auf die Fette einwirken zu können. Untersuchungen in dieser Richtung zeigen, dass man beim Schütteln von Galle mit flüssigem Fett wohl eine

---

1) Précis élémentaire de physiologie, 1825, Bd. II, S. 117.

2) Bidder und Schmidt: Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel, 1852, S. 223.

3) Voit: Ueber die Bedeutung der Fette etc. 1882.

4) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 29, S. 509.

feine Vertheilung des letzteren erhält, niemals aber eine bleibende Emulsion, das Fett scheidet sich beim Stehen bald wieder ab. Dies ist ein Verhalten wie es jede Flüssigkeit von der Viscosität der Galle zeigt. In dieser physicalischen Eigenschaft kann also nicht die Wirkung der Galle liegen.

Bidder und Schmidt stellten dann die Hypothese auf, die Galle wirke durch eine Benetzung der Epithelialzellen, wodurch die Attraction der letzteren für Fette gesteigert und der Durchgang derselben erleichtet würde. Unter ihrer Leitung hat von Wistinghausen[1]) einige Experimente zur Stütze dieser Ansicht angestellt. G. Quincke[2]) hat diese Versuche wiederholt und näher beleuchtet. Er kommt zu dem Resultat, dass ein Anziehen der Galle durch die Membranen der Chylusgefässe und ein Nachziehen der Oeltröpfchen nicht nachgewiesen sei. Auch Hoppe-Seyler verwirft diese doch etwas sehr mechanische Vorstellung, indem er in seiner Physiologischen Chemie[3]) sagt: «Die Darmepithelzelle ist ein lebender Organismus, welcher von der inneren Darmoberfläche her die verschiedensten Stoffe erhält, die je nach ihren Affinitäten auf ihn einwirken und ihn zur chemischen Reaction veranlassen können etc.»

Von den Histologen sind aktive Bewegungen an der Epithelzelle des Froschdarmes gesehen worden, so von von Thanhoffer[4]). Und Spina[5]) sah eigenthümliche Bewegungsvorgänge im Zusammenhang mit der Resorption. Röhmann[6]) wirft daraufhin die Frage auf, ob die Galle nicht dadurch wirkt, dass sie gewissermassen ein Reiz für die Epithelzelle sei, sie zur Funktion anrege, vielleicht auch funktionsfähig erhalte. Für eine solche Erklärung fehlt aber ein jedes Analogon. Und so lange wir andere Zellfunktionen, z. B. die Aufnahme der Kalisalze in die Blutzellen aus dem davon nur Spuren enthaltenden Blutserum, nicht erklären

---

1) Dissertation Dorpat, 1851.

2) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 19, S. 137.

3) S. 352.

4) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 8, S. 400.

5) Ueber Resorption und Secretion, Leipzig 1882.

6) L. cit., S. 535.

können, müssen wir uns wohl begnügen, die Aufnahme des Fettes in die Epithelzelle als eine Funktion der lebenden Zelle zu bezeichnen. Jedenfalls liegt es näher, einer vorbereitenden Einwirkung der Galle nachzuforschen. Direct emulgirend wirkt sie nicht, dass sie es indirect thut, hoffe ich unten nachweisen zu können.

Als Cl. Bernard bei seinen Untersuchungen über das Pancreas entdeckte, dass das Secret desselben im Stande sei, Neutralfette in Basen und Säuren zu zerlegen, glaubte er behaupten zu dürfen, dass die Resorption der Fette nur unter Mitwirkung des Pancreassecrets möglich sei. Bernard behauptete jedoch gleich, dass die Einwirkung des Pancreassaftes auf die Fettstoffe im Organismus nicht auf einer Verseifung beruhe. Dann hat Lenz[1]) die Frage der Pancreaswirkung durch Thierexperimente weiter zu erforschen gesucht. Er fand bei Katzen, die durch den Mund mit grossen Mengen Butter gefüttert und nach 6—14 Stunden getödtet worden, wohl die Chylusgefässe strotzend von weissem Milchsaft, aber weder im Magen noch im Darme freie Buttersäure. Wurde jedoch die flüssige Butter direkt in den Darmkanal gebracht und die Thiere 9—11 Stunden später getödtet, so zeigte sich im Darmkanal ein starker Buttersäuregeruch und der Darminhalt reagirte auch auf Lakmus sauer. Wurde jedoch endlich auch der Pankreassaft durch eine Darmligatur unterhalb der Einmündungsstelle des Ganges ausgeschaltet und Fette in den unterhalb gelegenen Theil des Dünndarms gebracht, so zeigte sich wieder keine Spur von Buttersäure. Auch bei einer alleinigen Unterbindung des pancreatischen Ganges zeigte sich keine Buttersäure. Bidder und Schmidt schliessen aus diesen Versuchen, dass die Spaltung der Fette durch Pancreassaft nur dann stattfinden kann, wenn kein Magensaft Zutritt hat. Den inhibirenden Einfluss schreiben sie der Magensäure zu. Diese Erklärung ist jedoch nicht stichhaltig, da der Magensaft sehr bald im Darme neutralisirt wird. Durch die Untersuchungen von Zawilski[2]) lassen sich die obigen

---

[1]) Bei Bidder und Schmidt, S. 249.

[2]) Arbeiten aus der physiologischen Anstalt zu Leipzig 1877, S. 147.

schönen Experimente leichter erklären. Zawilski fand nämlich, dass der Magen grössere Fettmengen zurückhält und erst nach und nach an den Darm abgibt. Nach 4 St. 18 M. fand er von 148,5 gr. Fett noch 108 gr. im Magen, im Dünndarm nur 9,90 gr.; nach 5 St. 47 M. von 150,4 gr. 98 gr. im Magen, im Dünndarm 8,84 gr.; nach 21 St. 44 M. von den gefütterten 150,8 gr. Fett im Magen noch 9,747 gr., aus dem ganzen Darminhalt gewann er 6,238 gr. In 30 St. nach der vollendeten Fütterung von 150 gr. konnten im Magen noch Spuren (0,043 gr.) nachgewiesen werden, im Darminhalt waren noch 2,024 gr. Hiernach verweilen die Fette niemals längere Zeit im Darm, erst wenn die vorhandenen Mengen resorbirt sind, können neue aus dem Magen nachrücken, sonst würde bei den grossen gefütterten Massen nicht in jedem Zeitraume sich eine ziemlich constante kleine Menge im Darme vorfinden. Da nun die Spaltung der Fette erst nach längerer Zeit stattfindet, wie jeder leicht sich überzeugen kann und was auch von allen Autoren zugegeben wird, so kann es bei der regulatorischen Thätigkeit des Magens gar nicht zu einer Zerlegung kommen.

Bei Besprechung der Pancreaswirkung sagt Hoppe-Seyler[1]): «Auch die Einwirkung des wässerigen Pancreasauszugs erfolgt nur langsam und da in faulenden Flüssigkeiten auch die Fette relativ schnell verseift werden, das Pancreassecret aber sehr schnell in Fäulniss übergeht, lässt sich bei den meisten Versuchen kaum sagen, in wie weit die Zerlegung der Fette durch das Drüsenferment erfolgt sei.» Duclaux[2]) findet sogar, dass der Pancreassaft immer Mikroben enthält, von denen er aber wegen seiner Viscosität nicht durch Filtriren aus Thonzellen befreit werden kann. Um nun die reinen Pancreaswirkungen studiren zu können, hat er Pancreasstücke unter aseptischen Cautelen dem lebenden Thiere entnommen und damit Versuche angestellt. Er findet eine Einwirkung auf Stärke etc. und auf Eiweiss, ein fettspaltendes Ferment fehlt nach ihm vollständig im Pancreas.

---

1) Physiologische Chemie, S. 263.
2) Comptes rendus, T. 94, 1882, I Sem., p. 808.

Trotz alledem wirkt aber das Pancreas bei der Resorption der Fette mit. Der Saft wie der wässerige Auszug der frischen Drüse bringen in Berührung mit Fett dieses in eine feine und bleibende Emulsion. Diese Emulsion tritt momentan ein und ist desshalb nicht auf eine Fermentwirkung, sondern auf eine physikalische Eigenschaft der Pancreasflüssigkeit zurückzuführen. Weiter unten werde ich auf die Fettspaltungsfrage noch zurückzukommen haben.

Bei meinen Untersuchungen über Mucin konnte ich bekanntlich aus demselben ein Kohlehydrat abspalten, das ich thierisches Gummi genannt habe. In meiner letzten Abhandlung[1]) liess ich es noch unentschieden, ob dieses Kohlehydrat eine Beimengung beim Mucin oder in demselben in leichter Verbindung sei. Ich kann jetzt mich dahin entscheiden, dass das Mucin als eine chemische Verbindung von thierischem Gummi mit einer Globulinsubstanz aufzufassen ist. Ich bezeichne den zweiten Componenten kurz eine Globulinsubstanz, weil er ein von einer Zelle gelieferter Eiweisskörper ist, der sich gegen Säuren und Alkalien wie eine Globulinsubstanz verhält. Ich behaupte jedoch nicht, wie irrthümlich verstanden zu sein scheint, dass jede Globulinsubstanz mit thierischem Gummi Mucin gebe. Ich habe im Gegentheil in meiner ersten Publikation[2]) schon angegeben, dass im Parotisauszug dies Kohlehydrat vorkommt, ohne dass ein schwach alkalischer Auszug dieser Drüse einen Niederschlag mit Essigsäure gibt. Und Globuline sind in solchen Drüsenauszügen bekanntlich immer.

Nach Ellenberger und Hofmeister[3]) scheint beim Pferde die Parotis viel freies thierisches Gummi zu enthalten. Sie geben nämlich von dem Parotisspeichel an, dass er auf Fett besonders emulgirend wirke und frei von Mucin sei.

Ich glaube auch nicht, dass das Mucin im Organismus einfach durch ein Zusammentreten von Gummi mit Globulin

---

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VIII, S. 118.
[2]) Ebendaselbst, Bd. V, S. 380.
[3]) Archiv für wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde, Bd. 7.

entsteht, sondern nehme an, dass es durch Zellthätigkeit aus einem grösseren Eiweissmolekül entstanden ist. Dass das Mucin ein chemisches Individuum ist, geht aus folgendem einfachen Experiment hervor. Nimmt man eine Mucinlösung und übersättigt sie mit einem Neutralsalz, z. B. Glaubersalz, so verträgt die Lösung mehr Essigsäure, ohne gefällt zu werden, als ohne Salz. Die Löslichkeit des Mucins wird also durch Neutralsalze vermehrt. Kocht man aber eine salzgesättigte Lösung von Mucin auf, oder zerstört man das Mucin anderweitig etwa durch eine Mineralsäure, so tritt eine flockige Fällung ein, Ammoniumsulfat fällt sowohl das Kohlehydrat, wie den Eiweisspaarling, Natriumsulfat fällt nur den letzteren allein. Erhitzt man zum Kochen, so coagulirt das Eiweiss und man kann das Gummi durch Filtration entfernen. Ich bin mit der Untersuchung des Eiweisskörpers beschäftigt und werde nächstens die Analysen veröffentlichen. Gleichzeitig will ich hier schon erwähnen, dass es mir auch gelungen ist, in ähnlicher Weise das Chondrin in ein Kohlehydrat und einen albuminoiden Körper zu zerlegen. Ich hoffe bald auch hierüber Mittheilung machen zu können.

Die grosse Aehnlichkeit, die zwischen thierischem und Pflanzengummi besteht, und die ausgesprochene Eigenschaft des letzteren Emulsionen zu bilden, forderten mich auf, in thierischen Emulsionen nach thierischem Gummi zu suchen. Meine Bemühungen waren von Erfolg gekrönt. Ich fand mein Kohlehydrat, sowohl in darauf untersuchtem chylösen Ascites, als auch in der Milch. Ritthausen's[1]) Bemerkung über eine dextrinartige Substanz in der Milch bezieht sich auf der geringen Menge wegen nicht erkanntes thierisches Gummi. In diesen thierischen Emulsionen findet sich das Gummi in freiem Zustande.

Diese Ergebnisse legten die Frage nahe, ob das thierische Gummi nicht auch bei der Fettresorption betheiligt sei. So liess zunächst die emulgirende Eigenschaft des Pancreassaftes thierisches Gummi vermuthen. Nach einer neuen Methode, die grosse Vorzüge vor der früher ange-

---

1) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd 15, S. 329.

wandten Eisenmethode hat, konnte mit Leichtigkeit freies thierisches Gummi im Pancreas nachgewiesen werden.

Nimmt man ein frisches Pancreas, zerkleinert es möglichst und presst es mit Wasser aus, so bekommt man einen Auszug, der sehr emulgirend wirkt, ganz wie guter Pancreassaft. Frische Pancreasdrüsen sind immer aus dem Schlachthause zu beziehen. Aus solchen Drüsen kann man ohne Schwierigkeit thierisches Gummi nach einem gleich zu schildernden Verfahren gewinnen. Die Bauchspeicheldrüsen werden zerkleinert mittelst Scheere oder Fleischhackmaschine. Der Brei wird auf dem Wasserbade mit destillirtem Wasser längere Zeit digerirt, dann wird die Schale auf freies Feuer gesetzt und unter fleissigem Umrühren einige Minuten lang im Sieden erhalten, bis zur guten Gerinnung des Eiweisses. Ein Zusatz von Essigsäure ist beim Pancreasextrakt nicht nöthig. Durch Faltenfilter lässt sich jetzt eine opalescirende Flüssigkeit abfiltriren, wenn man genügend Wasser (bis $^1/_2$ Liter für die Drüse) zur Extraktion verwendet hat. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade eingeengt, wobei sich gewöhnlich noch etwas Albumin abscheidet. Etwas Eiweiss ist aber immer noch in Lösung. Um dieses zu entfernen, wird Glaubersalz bis zur Sättigung eingetragen und die mit einigen Tropfen Schwefelsäure schwach sauer gemachte Flüssigkeit zum Sieden erhitzt. Es erfolgt jetzt eine letzte flockige Ausfällung von Eiweiss. Nach dem vollständigen Erkalten wird abfiltrirt und der Krystallbrei mit gesättigter Glaubersalzlösung ausgewaschen. Das Filtrat enthält, wie Biuretreaktion und Millon's Reagens zeigen, noch peptonartige Körper, aber in so geringer Menge, dass sie für die Gewinnung des thierischen Gummis nicht schaden.

Für die Isolirung des thierischen Gummis hat sich die Verbindung desselben mit Kupferoxyd am geeignetsten gezeigt. Dieselbe ist in Wasser unlöslich, bei Gegenwart von Eiweiss scheidet sie sich jedoch nicht gut ab. Um zu erfahren, wie viel schwefelsaures Kupfer zuzusetzen ist, verfährt man zweckmässig folgendermassen: Man misst das Gesammtfiltrat, bringt einige abgemessene Cubiccentimeter davon in ein

Probirrohr, fügt dazu auch aus einer Bürette concentrirte schwefelsaure Kupferlösung und macht stark alkalisch. Es entsteht ein blauer flockiger Niederschlag, der bei Gegenwart von thierischem Gummi sich durch seine schöne weiss-blaue Farbe von den Flocken des blauen Kupferoxydhydrats unterscheidet. Um nun zu erfahren, ob noch nicht genug oder zu viel Kupfersulfat zugesetzt ist, erhitzt man zum Sieden. Abscheidung von schwarzem Kupferoxydhydrat zeigt, dass zu viel Kupfersulfat zugesetzt ist. Man kann so leicht annähernd die Menge des zuzusetzenden schwefelsauren Kupfers feststellen. Hat man die richtige Menge zugesetzt, so scheidet sich die schön blaue Verbindung nach Zusatz von Natronlauge bald gut ab. Pepton bleibt mit violetter Farbe in Lösung. Um die Bildung von basisch-schwefelsaurem Kupfer zu vermeiden, muss Natronlauge immer im Ueberschusse vorhanden sein. Man giesst desshalb die Kupferlösung in die verdünnte Natronlauge. Der Niederschlag wird auf's Filter gebracht und wiederholt ausgewaschen, mindestens zwei Tage lang, wenn man ein reines Präparat haben will. Natronhydroxyd wird besonders energisch festgehalten. Dieser leider sehr voluminöse Niederschlag wird durch Salzsäure zerlegt und das thierische Gummi durch Alkohol gefällt. Hierbei ist aber Verschiedenes zu beachten. Würde man erstens den Niederschlag ohne Weiteres auflösen, so würde man bei dem grossen Wassergehalt desselben eine grosse Flüssigkeitsmenge bekommen und sehr viel Alkohol gebrauchen, der bei der schon früher hervorgehobenen Löslichkeit des reinen Gummis in Alkohol, sehr grossen Verlust an Substanz bringen würde. Man muss desshalb zur Entfernung von Wasser das Filter mit dem Niederschlage auf einer dickeren Schicht ungeleimten Papiers einige Tage liegen lassen. Für die Auflösung bediene ich mich der concentrirten Salzsäure. Freie Salzsäure erhöht jedoch die Löslichkeit des Gummis in Alkohol sehr. Zur Vermeidung eines grossen Ueberschusses setzt man die Säure nach und nach zu der in einer geräumigen Reibschale befindlichen Verbindung. Nach erfolgter Auflösung filtrirt man wenn nöthig und versetzt mit der

drei bis vierfachen Menge Alkohol. Man bemerkt zunächst nur eine Trübung. Erwärmt man aber vorsichtig auf dem Wasserbade, so tritt bald nach 50° eine schöne weissflockige Abscheidung ein. Durch Abfiltriren, Wiederauflösen in Wasser, Fällen mit Alkohol in der oben geschilderten Weise kann die Substanz leicht von den letzten Spuren Kupfer befreit werden. Der so erhaltene Körper stimmt in Reaktionen und Zusammensetzung vollständig mit dem von mir als «thierisches Gummi» bezeichneten Kohlehydrat überein. Ein bis zum constanten Gewicht bei 120° getrocknetes Präparat gab:

C	44,12	und	44,09
H	6,24		6,31

für $C_6H_{10}O_5$ wird 44,4% C und 6,17% H gefordert.

Gleichwie das pflanzliche Gummi durch Kochen mit Wasser seine viscöse Beschaffenheit und damit bedeutend an emulgirender Kraft verliert, so auch das thierische. Beim Pflanzengummi sind bekanntlich diese beiden Zustände durch besondere Namen unterschieden. Arabin wird das Gummi genannt, wenn es sich in Wasser löst und ziemlich leicht filtrirt, quillt es jedoch in Wasser nur auf, bildet es eine sogenannte Micellarlösung, so spricht man von Metarabin. Im Pancreassaft ist das thierische Gummi im gequollenen Zustande und in Verbindung mit Kalk, der sehr hartnäckig festgehalten wird. Das Pflanzengummi erhält man, wie bekannt, stets auch in Verbindung mit Kalk.

Durch den Nachweis des thierischen Gummi's im Pancreassecret ist die emulgirende Eigenschaft desselben als auf diesem beruhend erklärt. Aus einzelnen guten Pancreas konnte ich ein Gramm Substanz gewinnen, doch wechselt der Gehalt sehr. Es werden sicher Beziehungen zwischen Gehalt und Verdauungsperioden bestehen, die durch quantitative Ermittelungen festzustellen sind.

Ausser dem freien thierischen Gummi wird im Pancreas auch immer etwas gebunden als Mucin vorkommen. In dem Mucin des Bindegewebes konnte ich nämlich auch thierisches Gummi nachweisen. Diese geringe Menge im Bindegewebe

des Pancreas kommt natürlich nicht in Betracht. Trockenes Mucin enthält nur etwa 12% Kohlehydrat.

Obiger positive Befund im Pancreas ermuthigte sehr, auch in Rücksicht auf die Galle Untersuchungen anzustellen. Als ich im Verlauf meiner Untersuchung über das Gallenmucin[1]) wiederholt dasselbe nach Kochen mit Säuren auf Reducirbarkeit von Kupferoxyd in alkalischer Lösung prüfte, erhielt ich stets ein negatives Resultat. Diese Versuche habe ich später öfters wiederholt, jedoch immer mit demselben Erfolg. Ich erhielt wohl Gallesäurereaction, aber ein Kohlehydrat fehlte. Wenn man nun erwägt, dass die von der Leber gelieferte Galle frei von Mucin ist, dieses erst aus den Gallenwegen zur Galle tritt, so erscheint die Anwesenheit der Gallensäure als Bestandtheil des Mucins paradox. Um den Widerspruch aufzuklären, nahm ich frische Gallenblasen, spülte die Schleimhaut gut, ohne mechanische Gewalt, schabte dann das Epithel ab und zog dieses mit wenig verdünnter Sodalösung aus. Diesen Auszug fällte ich mit Essigsäure und erhielt so Mucinflocken, die ich in einer kleinen Flasche mit verdünnter Salzsäure zwei Stunden unter Druck kochte. Jetzt prüfte ich in alkalischer Lösung auf Reducirbarkeit von Kupfer. Und siehe da: Ich erhielt deutliche Reduction.

Das von den Gallenwegen gelieferte Mucin ist also gewöhnliches Mucin, wie es sonst im Körper vorkommt. Dasselbe wird von der Galle zerlegt und das Kohlehydrat bleibt gelöst, wenn das neu entstandene Gallenmucin durch Essigsäure ausgefällt wird. Um die Richtigkeit dieser Annahme zu prüfen, verfuhr ich folgendermassen: Aus Submaxillardrüsen machte ich mir mit Hilfe einer verdünnten Sodalösung einen Schleimauszug und versetzte diesen mit filtrirter Galle. Jetzt wurde Essigsäure im Ueberschuss hinzugefügt. Es schied sich viel Mucin ab, aber schon das Aussehen des Niederschlages zeigte, dass es sich nicht um Speichelmucin handelte. Das Mucin bestand nicht aus einem einzigen Coagulum, das als Ganzes mit dem Rührstab herausgehoben

---

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V.

werden kann, sondern bildete mehrere weniger cohärente Coagula, die sich in ihrem Aussehen in nichts vom Gallenmucin unterschieden. Beim Abfiltriren der Gerinnsel wurde weiter bemerkt, dass dieses viel langsamer vor sich ging, als bei der Galle allein, während es doch, wenn das Mucin der Sodalösung ganz ausgefällt wäre, leichter gehen sollte, da in diesem Falle die essigsaure Natronlösung als Verdünnungsmittel wirken müsste. Es muss also etwas zurückgeblieben sein, das die Viscosität der Galle noch erhöhte. Bei der weiteren Untersuchung der gewaschenen Mucingerinnsel zeigte sich denn auch, dass weder thierisches Gummi aus ihnen dargestellt werden konnte, noch dass sie nach Kochen mit Säuren Kupferoxyd reducirten. Aus dem Filtrat konnte aber thierisches Gummi erhalten werden. Die Gallensäuren haben also eine grössere Verwandtschaft zum Eiweisscomponenten des Mucins als das Kohlehydrat und machen desshalb das letztere frei.

Im Duodenum, wo Galle mit dem Darmschleim zusammentritt, muss dieselbe Reaktion auftreten, wie ausserhalb des Körpers und es kann wohl keinem Zweifel mehr unterliegen, dass wir eine Hauptquelle des thierischen Gummis für die Emulgirung des Fettes im Darme im Mucin zu suchen haben.

Nach Bidder und Schmidt's[1]) Untersuchungen an sich selbst beträgt allein der vom Erwachsenen verschluckte Speichel in 24 Stunden reichlich 1½ kg. Tuczek[2]) findet für die kurze Zeit des täglichen Kauens (30—58 Min.) 500 bis 700 gr. Aus den Mucinbestimmungen lässt sich nicht die Gesammtmenge berechnen, da sie sehr wenig übereinstimmen. Herter's[3]) Analysen zeigen, dass beim Essen der Mucingehalt bedeutend wächst. Derselbe fand im Submaxillarsecret nach Reizung der Mundhöhle mit Essigsäure nur 0,6‰ Mucin, während beim Kauen von Fleisch ein über 4mal so mucinreiches Secret erhalten wurde. Wenn

---

1) L. cit.

2) Zeitschrift für Biologie, Bd. XII.

3) Hoppe-Seyler: Physiologische Chemie, S. 191.

aber auch die Menge des thierischen Gummis gering ist, so ist die Lieferung dieses Stoffes doch wohl als wichtigste Eigenschaft des Mundspeichels anzusehen, der gegenüber die diastatische Wirkung und die Formirung des Bissens zurücktritt. Man braucht nur einem Raubthiere, einem Hunde beim raschen Schlucken von Fleischstücken zuzusehen, um überzeugt zu sein, dass hier, obgleich ihm das Maul von Speichel überläuft, weder eine Einwirkung auf das Glycogen des Fleisches noch eine besondere Bildung von Bissen mit Hilfe von Speichel statt hat.

Der Magen selbst liefert durch seine Epithelzellen eine nicht unbedeutende Menge Mucin, die noch zu dem im Speichel verschluckten Mucin hinzukommt. Wenn man ein hungerndes Thier rasch tödtet und sofort den Magen untersucht, so findet man allerdings nur eine überaus dünne Schleimschicht vor; bei einem in der Verdauung begriffenen Thier bemerkt man jedoch nach Abspülen des Chymus eine bedeutende Schleimproduktion. Mit der Schlundsonde entnommener saurer Magensaft, giebt weder gleich, noch nach vorsichtiger Neutralisation mit Essigsäure eine Fällung. Was wird aus dem Schleim? Maly[1]) giebt an, dass der Schleim nicht verdaut wird und stützt diese Ansicht durch eine Behauptung Kühne's, wonach sich Schleim weder in 0,3 bis 0,4% HCl, noch in Magensaft löse. An einer früheren Stelle[2]) behauptet dieser Autor allerdings, ein durch Aufgiessen von 0,1—0,2% HCl auf Magenschleimhaut gewonnener filtrirter künstlicher Magensaft sei höchst unrein, weil er Schleim etc. enthalte. Aus Analogie, bemerkt Hoppe-Seyler[3]), sollte man erwarten, dass das Mucin ebenso wie das Chondrin vom Magensaft zerlegt wird. Und so ist es in der That. Mischt man Magensaft mit Schleim, so tritt zunächst allerdings Trübung ein, die aber sofort wieder verschwindet. Es kommt nicht zu einer Ausfällung des Mucins, wie bei Zusatz von Essigsäure, das Mucin wird vielmehr zerstört, es findet sich

---

1) Hermann's Handbuch, Bd. V, Th. 2, S. 107.

2) Ibid., S. 72.

3) Physiologische Chemie, S. 234.

Acidalbumin neben freiem Gummi. Durch Herrn Dr. Cahn, ersten Assistenten an der hiesigen medicinischen Klinik, bekam ich mehrere mit der Magenpumpe gewonnene Magensäfte zur Untersuchung, thierisches Gummi fehlte darin nie. Ich habe nicht nur die beim Kochen sich nicht schwärzende Kupferoxydverbindung dargestellt, sondern aus letzterer wiederholt die reine Substanz. Lässt man Magensaft sehr lange auf Mucin einwirken, so bildet sich die kupferoxydreducirende Substanz. Im normalen Magensaft findet sich also immer schon freies thierisches Gummi, das aus dem Mucin des Speichels und der Magenschleimhaut stammt. Die freie Mineralsäure lässt das Fett jedoch noch nicht zur Emulsion kommen. Vermuthlich tritt aber auch unzersetztes Mucin aus dem Magen in den Darm, und zwar in dem zähschleimigen alkalisch reagirenden Secret des Pylorustheils.

Im Darm selbst findet sich jedoch die Hauptquelle des Mucins in den Epithelzellen der durch die Lieberkühn'schen Einstülpungen und zottigen Hervorragungen bedeutend vergrösserten Darmschleimhaut; nach Coste's Untersuchungen scheinen auch die Brunner'schen Drüsen ein sehr mucinreiches Secret zu liefern, wofür die Lage der letzteren sehr spricht. Im Dickdarm wird unter physiologischen Verhältnissen die Mucinausscheidung geringer, beim Dickdarmkatarrh findet sich jedoch viel gewöhnliches Mucin im Stuhl, das also nicht wieder resorbirt zu werden scheint; während im normalen Koth nur Gallenmucin, das nach Kochen mit Säuren nicht reducirte, von mir gefunden wurde.

Ehe ich nun die Verhältnisse im Darme bespreche, habe ich einige Experimente zu schildern, die den Vorgang im Darm nachzuahmen und so zu erklären suchen. Schüttelt man eine mit 1‰ Soda aus Submaxillardrüsen gewonnene Mucinlösung mit etwas Fett, so tritt zwar eine Art Emulgirung ein, von einer dauernden Emulsion ist aber nicht die Rede, sehr bald scheidet sich das Fett in grossen Tropfen wieder ab. Galle verhält sich ebenso. Bringt man von diesen Scheinemulsionen unter's Mikroskop, so bemerkt man nichts Einheitliches, was Grösse der Fetttropfen anbetrifft.

Bringt man aber zu einer Mucinlösung, der etwas Fett zugesetzt war, einige Cubiccentimeter Galle, so bedarf es keines Schüttelns, die ganze Flüssigkeit wird spontan zu einer weissen Milch. Auch das mikroskopische Bild zeigt jetzt ein homogeneres Aussehen. Die Fetttröpfchen sind viel kleiner als bei den vorigen Versuchen und haben nur eine Grösse von 2—10 μ. Erst bei überschüssigem Fett finden sich auch grosse Fetttropfen. Mucin von der Magen- oder Darmschleimhaut gewonnen, verhält sich ebenso. Aus diesem Versuch geht hervor, dass das thierische Gummi nicht erst beim Ausfällen des Gallenmucins frei wird, sondern sich schon in alkalischer oder neutraler Lösung beim Vorhandensein von Galle im freien Zustande befindet. In der Kälte halten sich diese Emulsionen mehrere Tage lang, erst mit der Zersetzung des Gummis scheidet sich das Fett wieder ab. Ich habe wiederholt Versuche über Emulgirung angestellt und Galle, Mucin, Soda- wie Seifenlösung in dieser Hinsicht untersucht. Es bedarf hier immer einer mechanischen Unterstützung für die Emulsionbildung und eine wahre tagelang bestehende kommt bei diesen Flüssigkeiten doch nicht zu Stande. Beim thierischen Gummi erzielt man dagegen stets eine reichliche Emulsion, die in nichts einer mit gutem pflanzlichen Gummi erzeugten nachsteht.

Ehe ich zur Besprechung der Darmverhältnisse bei der Fettresorption übergehe, will ich kurz das Vorhergehende rekapituliren.

Nachdem ich aus thierischen Emulsionen thierisches Gummi dargestellt hatte, schloss ich auf das Vorhandensein desselben im gesunden Pancreassaft und konnte ich aus Pancreas mit Leichtigkeit thierisches Gummi darstellen. Ferner fand ich dasselbe stets in darauf untersuchtem Magensaft. Weiter habe ich experimentell festgestellt, dass beim Zusammentreffen von Galle und Mucin Gallenmucin gebildet und thierisches Gummi frei wird, welches sogleich vorzügliche emulgirende Eigenschaften entwickelt.

Aus den Untersuchungen von Zawilski[1]) wissen wir,

[1]) L. cit.

dass die mit der Nahrung in den Magen gebrachten Fettmengen, denselben nicht auf einmal verlassen, sondern erst nach und nach in den Darm treten, so dass er bei einem grossen Hunde, dem ca. 150 gr. Fett gegeben waren zu keiner Zeit der Verdauung über 10 gr. im Darme vorfand. Mit jeder Fettportion tritt schon eine geringe Menge Gummi aus dem Magen. Der Pylorustheil des letzteren und das Duodenum liefern Schleim und im verticalen Theil des Duodenums führen Leber und Pancreas durch den Ductus choledochus und den pancreatischen Gang ihre Secrete in den Darm ab. Galle und Schleim wirken hier sogleich auf einander ein und so lange der Chymus sauer reagirt, muss es zu einer Ausfällung von Gallenschleim kommen. Durch die gallensauren Salze wird die Salzsäure des Magensaftes sogleich neutralisirt, so dass die saure Reaction nur durch organische Säuren bedingt ist. Gallenmucin ist auch gegen Mineralsäuren nicht so empfindlich als gewöhnliches Mucin; so kann man Gallenmucin zur Entfernung der Phosphate mit 10% Salzsäure waschen, Kalkwasser oder Sodalösung nimmt später immer noch einen grossen Theil wieder auf, der durch Essigsäure wieder ausgefällt werden kann. Wie ich mich wiederholt überzeugt habe, bestehen die der Darmwand in der Nähe des ductus choledochus fest anhaftenden braunen Flocken aus Gallenmucin. Sie gaben alle Reactionen, wie ich sie bei dem Mucin aus der Galle gefunden habe. Lässt man verdünnte Säure über eine mit Galle benetzte Stelle der Darmschleimhaut laufen, so coagulirt der Schleim zu braunen Flocken, die ganz das Aussehen und das Verhalten zeigen wie die beim verdauenden Thier. Sobald die Reaktion alkalisch wird, werden sie gelöst und wohl zum weitaus grössten Theile resorbirt. Im normalen Koth fand ich immer nur eine geringe Menge Gallenmucin. Bald wird die Reaktion neutral, der Darmchymus bekommt ein milchiges Aussehen und wird, wie die mit Chylus gefüllten Lymphgefässe zeigen, resorbirt. Zeitlich und räumlich gehen also, wie es scheint, die Resorption der Gallensäure und des emulgirten Fettes parallel; es ist desshalb wohl möglich, dass letzterem durch

erstere der Weg geebnet wird. Für diese Annahme liegen jedoch keine weiteren Beweise vor. Es kommt jedoch, wie bekanntlich von allen neueren Experimentatoren zugegeben wird, auch bei Abschluss der Galle zur Resorption von Fett; die Menge desselben wird begrenzt sein durch die Menge des — vorzugsweise vom Pancreas gelieferten — freien Gummis.

Bei Abschluss der Galle vom Darmkanal wird das Mucin dort unzerlegt bleiben, grössere Fettmengen können nicht resorbirt werden. Sie bleiben liegen, zersetzen sich und werden im Koth als freie Fettsäuren und wesentlich als Seifen entleert. In den meisten Fällen tritt eine Entwickelung stinkender Gase auf und es kommt zu dem Zustande, wie er zuerst von Bidder und Schmidt in ihrer bekannten Abhandlung trefflich geschildert ist. Galle selbst fault an der Luft leicht, an eine aseptische Wirkung dieser ist nicht zu denken. In seiner physiologischen Chemie[1]) schreibt Hoppe-Seyler: «Die antiseptische Wirkung der Galle im Darmkanal kann wohl nur darauf beruhen, dass bei Gegenwart von Galle die Stoffe, welche faulen, dem Darminhalt schneller entzogen werden, so dass sie nicht so viele Fäulnissprodukte liefern können». Dies ist jedenfalls die nächstliegende Erklärung. In Betreff der Stoffe die faulen, ist natürlich nicht an die Fette zu denken. Diese werden allerdings sofort von Spaltpilzen angegriffen und ihr geringer Glyceringehalt zerstört, die Fettsäuren werden aber, wie die Analysen lehren, im Kothe ausgeleert. Zunächst ist bei den nicht zur Resorption gelangenden Stoffen jedenfalls an das Mucin zu denken, welches wegen des Reizzustandes der Darmschleimhaut noch bedeutend vermehrt ist. Das ausgefällte Mucin widersteht zwar lange der Fäulniss, aber nichts fault leichter als gelöstes Mucin. Es verliert bald seine viscöse Beschaffenheit, durch Essigsäure wird es nun nicht mehr gefällt; es dauert nicht lange und es reducirt, bald finden sich Milchsäure, Buttersäure und Essigsäure als Zerfallsprodukte des thierischen Gummis. Alle Kohlehydrate gehen bekanntlich leicht in die Milchsäuregährung über, bei Gegen-

1) S. 318.

wart von Eiweissstoffen; ganz besonders leicht thut dies das thierische Gummi. Die glycogenhaltige Leber zersetzt sich leicht, leichter aber das freies thierisches Gummi enthaltende Pancreas. Diese abnormen Gährungsprozesse wirken natürlich krankmachend auf die Darmschleimhaut, und die Resorption der anderen Nahrungsmittel leidet ebenfalls, diese liefern dann auch Fäulnissprodukte.

Der kachectische Zustand, an dem die Hunde mit Gallenfisteln zu Grunde gehen, hat grosse Aehnlichkeit mit dem bei der Phthise. Es ist bemerkenswerth, dass in beiden Fällen der Körper viel thierisches Gummi verliert, im ersteren wird es im Darmkanal zerstört, kommt also nicht wieder zur Resorption, im letzteren wird es als Schleim expectorirt. An einem anderen Orte werde ich bei Besprechung der functionellen Bedeutung des thierischen Gummis auf diese Frage näher eingehen.

Mit einigen Worten habe ich noch auf die fettspaltende Wirkung des Pancreas zurückzukommen. J. Munk[1]) hat nachgewiesen, dass beim Hunde Fettsäuren die Neutralfette vollständig ersetzen können, derselbe hat aber gleichzeitig gezeigt, dass Fettsäuren ganz wie Fette Emulsionen bilden. Für die Function des thierischen Gummis wäre es desshalb gleichgültig, ob es vorher zur Spaltung kommt, oder nicht. Freie Fettsäuren sind immer im Darme vorhanden. Hoppe-Seyler[2]) fand sie hier zuerst und zwar nicht nur im Dünn-, sondern auch im Dickdarm. Ebenso enthält jeder Koth bei fetthaltiger Nahrung Fettsäuren. Aus diesen Befunden darf man aber keineswegs schliessen, dass alles Fett vor der Resorption gespalten würde. Wir wissen, dass Fäulnissprozesse fortwährend im Darme statthaben und dass Fette durch diese leicht gespalten werden. Ganz ungezwungen können wir also diese Fettsäuren als durch Fäulniss aus nicht zur Resorption gelangtem Fette abgespalten, annehmen. Nach einer persönlichen Mittheilung des Herrn Prof. Hoppe-Seyler findet sich nach seinen Untersuchungen im fötalen

---

1) Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft 1879.

2) Virchow's Archiv, Bd. 26 (1863), S. 384.

Darm immer nur Neutralfett, keine Fettsäuren. Fäulnissprozesse fehlen hier nach den Berichten aller Untersucher.

Munk hat zwar gezeigt, dass von Hunden Fettsäuren sehr gut vertragen und resorbirt werden. Beim Menschen liegen die Sachen aber anders. Ich habe selbst Gemenge von Oel-, Stearin- und Palmitinsäure genommen und immer etwas Darmkatarrh darnach bekommen, stets konnte ich einen grossen Theil der Säuren im Kothe wiederfinden. Neutralfette werden hingegen von mir sehr gut vertragen und resorbirt.

Ziehen wir alle oben mitgetheilten Thatsachen in Erwägung, so müssen wir uns gegen eine normale Fettspaltung und wohl auch gegen ein eigentliches fettspaltendes Ferment im Pankreas aussprechen. Wir müssen vielmehr annehmen, dass durch die regulatorische Thätigkeit des Magens immer nur soviel Fett in den Darm tritt, als durch das vorhandene thierische Gummi emulgirt und schnell resorbirt werden kann; nur beim längeren Verweilen von Fett im Darm wird es zur Spaltung desselben und Ausscheidung grösserer Mengen von Fettsäuren im Darme kommen.

Am Schlusse meiner Abhandlung möchte ich noch auf ein auffälliges Zusammentreffen aufmerksam machen, welches zwar nichts mit der Fettresorption, wohl aber mit hem thierischen Gummi zu thun hat. Ueberall wo man ein diastatisches Ferment gefunden hat, findet sich thierisches Gummi und umgekehrt. So besteht das mit Alkohol aus Pankreas gefällte und mit Wasser wieder aufgenommene diastatische Ferment zum grossen Theil aus thierischem Gummi.

Physiolog.-chem. Institut der Universität Strassburg.

Ueber den Einfluss des Sauerstoffs auf Gährungen.

Von

Eduard Buchner in München.

(Der Redaktion zugegangen am 9. Februar 1885.)

Die Beziehung des Sauerstoffs zum Gährungsvorgang verdient sowohl in chemischer Hinsicht, als insbesondere vom physiologischen Standpunkt aus, grosses Interesse.

Wie bekannt stellte Pasteur 1861 als Resultat seiner Untersuchungen eine Theorie auf, welche man etwa dahin zusammenfassen kann: Die gährfähigen Pilze vermögen den zu ihrem Leben nöthigen Sauerstoff leichter zersetzbaren Verbindungen zu entziehen und bringen dieselben dadurch zum Zerfall, jedoch nur bei Abwesenheit freien Sauerstoffs. Die experimentelle Grundlage dieses Satzes wurde von Schützenberger angegriffen; ebenso führte Nägeli schwerwiegende Bedenken dagegen auf.

Auch in einer neueren Publikation vom Jahre 1876[1]) bleibt Pasteur auf dem früheren Standpunkt und veröffentlicht weitere Versuche, welche für seine Anschauungen beweisend sein sollen. Bei genauer Durchsicht müssen jedoch auch hier die Schlussfolgerungen als sehr fragwürdig erscheinen.

Kritik der Pasteur'schen Versuche.

Zuerst werden einige wenige Experimente über die Wirkung der Luft auf Sprosshefe angeführt. Ich habe die Resultate derselben der grösseren Uebersichtlichkeit halber

---

[1]) Études sur la bière. Paris 1876.

in der folgenden, kleinen Tabelle zusammengestellt; die Reihenfolge ist nach der Stärke der Lufteinwirkung gewählt, so dass Versuch (1) nahezu bei gänzlichem Sauerstoffmangel, (5) und (6) dagegen bei starkem Luftzutritt stattfanden. Die Beschaffenheit der Nährlösung bei (1) ist nicht angegeben und die eingesetzte Zahl nur als wahrscheinlich zu betrachten. Versuch (5) und (6) unterscheiden sich dadurch, dass bei (6) in Folge der geringen Versuchsdauer der anfänglich gelöste Sauerstoff mehr in Betracht kommt, als bei (5).

Pasteur's Versuche mit Sprosshefe.

Versuchs-Nr.	Études sur la Bière. pag.	Nährlösung. Sucre candi	Dauer des Versuches (t)	Zugegebener Zucker gr.	Vergohrener Zucker (z) gr.	Hefemenge am Schlusse (y)	Verhältniss zwischen Hefe und vergohrenem Zucker $\frac{y}{z}$
(1)	241	5 %(?)	3 Monate	150 (?)	45	0,255	$\frac{1}{176}$
(2)	236	5 «	20 Tage	150	145,4	1,368	$\frac{1}{89}$
(3)	236	5 «	10 «	150	150	1,970	$\frac{1}{76}$
(4)	242	5 «	2 «	10	10	0,44	$\frac{1}{22,7}$
(5)	243	0,9 «	2 «	1,72	1,04	0,127	$\frac{1}{8,1}$
(6)	243	0,9 «	1 «	1,72	0,098	0,024	$\frac{1}{4}$

Pasteur vergleicht nun die Verhältnisszahlen zwischen Hefe und vergohrenem Zucker, $\frac{y}{z}$, welche er «le pouvoir du ferment» nennt, direkt und glaubt daher Beweise zu seiner Theorie erhalten zu haben.

Es ist schwer einzusehen, von welchen Vorstellungen ausgehend sich Pasteur gegen die Einwände Schützenberger's taub zeigen konnte. Ganz unerlässlich ist es nämlich, auf die Dauer der Hefenwirkung Rücksicht zu nehmen; es kann doch nie gleichgiltig sein, ob eine gewisse Menge gährtüchtiger Hefe einen oder zwei Tage auf Zucker einwirkt. Sollte es dafür noch experimenteller Beweise bedürfen, so sind dieselben bereits erbracht und werde ich gelegentlich darauf hinweisen. Das einzig richtige Mass für die Stärke der Gährwirkung ist die Menge des vergohrenen Zuckers, dividirt durch das Produkt aus Hefengewicht mal Zeit, also $\frac{y}{z.t}$ in unserem Falle. Hierbei wird noch vorausgesetzt, dass die Hefenaussaat im Verhältniss zur Hefenmenge am Schlusse des Versuches jedesmal verschwindend klein sei und dass ferner die Entwickelung der Hefe während der ganzen Versuchsdauer gleichmässig verlaufe. Versuch (1) ist aus dem letzterwähnten Grunde mit den übrigen absolut unvergleichbar; ausserdem muss noch sogar angenommen werden, dass in diesem Versuche ein gut Theil der früher gebildeten Hefezellen in Folge Involutionserscheinungen zerstört wurde, wodurch die schliesslich zur Abwägung gelangte Hefenmenge jedes Anhaltspunktes für die wirklich in Thätigkeit gewesene Pilzmasse verlustig wird, denn wie Pasteur angiebt, mussten bei Unterbrechung dieses Versuches alle Zellen für «des cellules monstres» gehalten werden. Die Versuche (5) und (6) dagegen lassen sich mit den übrigen in keiner Weise vergleichen, da wir es hier mit einer 0,9 procentigen Zuckerlösung, sonst aber mit einer 5 procentigen zu thun haben. Berechnen wir für (2), (3) und (4) die Zahl $\frac{y}{z.t}$, so erhalten wir $\frac{1}{4,5}$, $\frac{1}{7,6}$, $\frac{1}{10,4}$ oder gerade

das Gegentheil von dem, was Pasteur finden wollte. Solche Versuche dürfen übrigens in keiner Weise als überzeugend betrachtet werden; denn abgesehen davon, dass die Culturen gegen das Aufkommen von Spaltpilzen nicht geschützt waren, hat Pasteur auch verschiedene Sprosshefeformen angewendet. So bei Versuch (2) und (3) Saccharomyces pastorianus, bei (5) und (6) obergährige Bierhefe; über die Aussaaten bei (1) und (4) verlautet gar nichts. Eine Angabe über die Temperatur bei den Gährungen findet sich auch nur für (2) und (3).

Jedenfalls können die Versuche Pasteur's mit Sprosshefe nicht als Beweis für die Sauerstoffentziehungstheorie gelten.

Ueber den Einfluss des Sauerstoffs auf Spaltpilzgährungen führt Pasteur einige spärliche Experimente an, die ihre Resultate nur dem mikroskopischen Befunde zu entnehmen scheinen. Beim ersten derselben wurde eine Lösung von milchsaurem Kalk und anorganischen Nährsalzen mit einer zufällig erhaltenen Pilzcultur, die hauptsächlich Buttersäurebacterien enthielt, inficirt. Nach drei Wochen war der Höhepunkt der Gährung erreicht. Nun wurden 2½ Liter der Lösung mit 50 cc. Luft alle 10 Minuten während einer Stunde geschüttelt. Eine mikroskopische Untersuchung ergab, dass die Bewegung der Vibrionen sehr abgeschwächt war. Die Gährung zeigte sich vermindert, ohne gänzlich aufgehoben zu sein, «zweifellos, weil nicht alle Theile der Lösung mit dem Sauerstoff der Luft in Berührung gekommen waren.» Leider fehlt eine Angabe, wodurch sich die Verminderung der Gährung kundgegeben haben soll. Aus den folgenden Versuchen ist zu schliessen, dass Pasteur die Abschwächung der Bewegungen der Spaltpilze allein schon als Zeugniss dafür ansieht. Jedenfalls ist zu berücksichtigen, dass durch das häufige Schütteln der Nährlösung, wohl verbunden mit einer Herausnahme aus dem Brütofen, eine nicht unbeträchtliche Herabminderung der Temperatur und damit eine wesentliche Verschlechterung der Bedingungen für das Wohlbefinden der Organismen gegeben war. Ein zweiter Versuch wurde

mit zwei «tubes d'essai» ausgeführt, welche zur Hälfte mit einer in gleicher Weise auf den Höhepunkt der Intensität gekommenen gährenden Flüssigkeit einer «anderen Gährung» gefüllt waren. In das eine Gefäss wurde nun ein Luftstrom eingeleitet, in das andere ein Kohlensäurestrom. «Nach Verlauf einer halben Stunde waren in dem Versuche mit Luft alle Vibrionen todt, zum wenigsten ohne Bewegung und die Gährung erholte sich nicht mehr; in dem Versuche mit Kohlensäure dagegen waren nach 3 stündiger Einwirkung die Vibrionen sehr lebhaft und die Gährung dauerte fort. Pasteur unterlässt jede Angabe, was das für eine «andere Gährung» war; ebenso ist keine Andeutung darüber vorhanden, wodurch auf die völlige Unterdrückung der Gährung in dem einen, auf die Fortdauer in dem anderen Fall geschlossen wurde. Davon dass die Spaltpilze durch den Lufteinfluss getödtet wurden, kann gewiss keine Rede sein, sie waren höchstens ohne Bewegung. Es ist aber eine Annahme, die jeder Begründung entbehrt, wenn man glaubt, von der mehr oder minder grossen Eigenbewegung der Spaltpilze direkt auf deren Gährvermögen schliessen zu können. Denn es giebt nicht nur Bacterien, welche unter vielen Bedingungen lebhafte Bewegungsfähigkeit zeigen, ohne jemals als Gährungserreger angetroffen worden zu sein — ich erinnere an Bacillus subtilis, wir kommen später darauf zurück — sondern wir kennen andererseits auch Spaltpilze, welche eine äusserst kräftige Gährwirkung mit ganz geringer Eigenbewegung verbinden (z. B. Bacterium Fitz.). Wie sehr übrigens die Pasteurschen Angaben über die Bewegungsfähigkeit der Spaltpilze mit Vorsicht aufzunehmen sind, beweisen seine weiteren Auseinandersetzungen «über den tödtlichen Einfluss der atmosphärischen Luft auf die Vibrionen». Eine gährende Flüssigkeit wurde, ohne mit Luft in Berührung gekommen zu sein, durch den Druck ihrer eigenen Kohlensäureentwickelung in eine flache Glaszelle getrieben; unter dem Mikroskop waren die Bewegungen der Vibrionen sehr deutlich zu bemerken. Wurde dagegen auf die gewöhnliche Weise ein Tropfen derselben Lösung unter einem Deckgläschen unter-

sucht, so war ein erstaunlicher Unterschied in der Stärke der Bewegungen gegenüber dem vorigen Versuche vorhanden. Ja noch mehr, man sah sogar am Rande des Tropfens unter dem Deckgläschen, also bei direktem Einfluss der Luft, alle Bewegungen aufhören, während sie in der Mitte der Flüssigkeit um so länger erhalten blieben, je mehr Vibrionen am Rande vorhanden waren, um den eindringenden Sauerstoff zu absorbiren. Man benöthigt ferner keine grosse Geschicklichkeit im Beobachten, um deutlich zu erkennen, dass in den ersten Augenblicken, nachdem das Deckgläschen mit dem Tropfen auf den Objektträger gebracht worden, nachdem also die ganze Flüssigkeit mit der Luft in Berührung kam, alle Vibrionen entkräftet, gewissermassen krank sind, dass sie nach und nach gegen den Mittelpunkt hin wieder beweglicher werden, im Verhältniss wie sie in Theile der Nährlösung kommen, die weniger Sauerstoff enthalten. So weit Pasteur.

Obwohl nun, wie schon erwähnt, von einem schädigenden Einfluss auf die Bewegungsfähigkeit kein direkter Schluss auf das Gährvermögen oder auf das Gesammtwohlbefinden oder gar auf Tod oder Leben gestattet werden kann, so schien eine experimentelle Prüfung der auffälligen Ergebnisse Pasteur's doch sehr wünschenswerth. Eine Angabe über die Spaltpilze, mit welchen diese Versuche ausgeführt wurden, fehlt; als Nährmaterial benutzte Pasteur anorganische Salze. In meinen Versuchen verwandte ich Reinculturen des Butylbacillus, der aller Wahrscheinlichkeit nach mit dem Vibrio butyrique identisch ist, und daher nach Pasteur's 1. Versuch sehr geeignet zu diesen Experimenten erschien. Die Culturen in sterilisirter Nährlösung von 5 % Glycerin, 2 % Fleischextrakt mit Zugabe von 5 % Calciumcarbonat waren bereits 24 Stunden nach der Aussaat auf dem Höhepunkt der Gährung angelangt. Die Bewegungen der Stäbchen und Fäden in der Glaszelle bei Luftabschluss erwiesen sich unter dem Mikroskop als äusserst kräftig. Aber auch unter dem Deckglas zeigten sich die Pilze sehr beweglich, bis hinaus an den Rand des Tröpfchens, mit einziger Ausnahme, dass

einzelne Stäbchen, besonders längere, wie festgekeilt lagen, während dagegen andere, besonders kürzere, sich lustig um dieselben herumtummelten und sogar zwischen ihnen und dem Flüssigkeitsrande durchschlüpften. Bringt man absichtlich Luftblasen unter das Deckgläschen, so kann man die Bewegungen der Bacterien in den schmalen Wasserstrassen zwischen denselben verfolgen; hier muss doch die Lösung baldigst mit Luft gesättigt sein, trotzdem konnte ich keine Abnahme der Beweglichkeit constatiren. Bringt man einen Tropfen der Gährflüssigkeit an einem Deckgläschen hängend in den Hohlraum eines hohlgeschliffenen Objektträgers, so müsste die Einwirkung der Luft jedenfalls sehr bald, besonders am Rande des Tropfens, wo die Flüssigkeitsschicht dünn ist, hemmend auf die Bewegungsfähigkeit einwirken. Ich habe diesen Versuch Dutzende von Malen ausgeführt, ohne eine solche Beobachtung machen zu können. Dagegen tritt die charakteristische Randschicht bewegungsloser Pilze immer dann auf, wenn in Folge Temperaturdifferenzen der Tropfen rasch verdampft; der äusserste Rand der Flüssigkeit zieht sich dabei sprungweise zurück und nimmt die in den verdampfenden Regionen befindlichen Pilze mit sich; dieselben sammeln sich in grösserer Zahl an und verlieren in Folge zu hoher Concentration der Nährlösung an diesem Punkte oder vielleicht auch in Folge physikalischer Anziehungskräfte ihre Beweglichkeit.

Ein weiterer Versuch sollte dem zweiten von Pasteur ähnlich gestaltet werden. Von einer Reincultur des Butylbacillus (Nährlösung: 5 % Glycerin, 2 % Fleischextrakt mit Zusatz von 5 % kohlensaurem Kalk), die sich bereits in starker Gährung befand, wurden ungefähr 20 cc. in sterilisirte Kolben von 300 cc. Inhalt gesaugt; hierbei war eine Verunreinigung durch fremde Pilze ausgeschlossen. Die Einrichtung der Kolben war so ziemlich die gleiche, wie sie bei meinen später zu erwähnenden Versuchen mit Bacterium Fitz. in Anwendung kam und dort beschrieben werden wird. Diese Kolben nun, in denen die Flüssigkeit nur eine 1 cm. hohe Schicht bildete, kamen in den Brütkasten und zugleich

in den Schüttelapparat zu stehen; in den einen wurde in starkem Strome Sauerstoff, in den anderen Kohlendioxyd eingeleitet und gleichzeitig durch Schütteln die Flüssigkeiten fortwährend in Bewegung erhalten. Das Zuleitungsrohr reichte in beiden Kolben bis auf den Boden, so dass die Gase in Blasen aufstiegen; der Austritt der Gase aus den Kolben erfolgte durch eine fein zugespitzte Glasröhre, in Folge dessen herrschte immer starker Luftstrom nach aussen; beide Glasröhren waren mit doppeltdurchbohrten Stopfen luftdicht in die Kolben eingesetzt. Nach 35 Minuten, nach 2½ Stunden, nach 8 Stunden wurden Proben der Culturen entnommen und mikroskopisch untersucht; es zeigte sich nirgends eine Abnahme der Beweglichkeit, selbst ganz lange Fadenformen waren in Bewegung. Auch nach 24 Stunden, als der Versuch unterbrochen wurde, zeigte sich kein anderes Resultat. Es waren gegen 7 Liter Sauerstoff eingeleitet worden. Die mikroskopische Untersuchung ergab keine Aenderung im Aussehen der Culturen; es wurden gefärbte Präparate davon angefertigt. Ferner machte ich von den Gährflüssigkeiten, sowohl der mit Sauerstoff-, als der mit Kohlensäureeinleitung eine Aussaat in je ein Gläschen mit sterilisirter Glycerin-Fleischextraktnährlösung. In beiden Fällen trat wie gewöhnlich lebhafte Gährung ein.

Wenn wir also die Pasteur'schen Angaben über den Einfluss des Sauerstoffs auf Spaltpilzgährungen mit diesen Resultaten vergleichen, so erscheint die Deutung seiner Beobachtungen als nicht unzulässig.

Versuche von Pedersen, Nägeli, Hoppe-Seyler und Fitz.

Nachdem die Frage über den Einfluss des Sauerstoffs auf Gährungen durch Pasteur in Fluss gekommen war, wurde sie nun auf alle mögliche Weise ventilirt und die verschiedensten Versuche angestellt.

Einen hervorragenden Rang unter den letzteren nehmen die Arbeiten R. Pedersen's über die untergährige Bierhefe

ein[1]). Derselbe bewies durch eine Anzahl von Experimenten den fördernden Einfluss der atmosphärischen Luft auf die Vermehrung der Hefe sowohl, als auf die Bildung von flüchtigen Produkten; wurde dagegen die entstandene Menge flüchtiger Körper auf die Gewichtseinheit Sprosshefe berechnet, so ergaben sich bei Luftzufuhr geringere Zahlen als bei Luftabschluss. Und zwar trotzdem Pedersen als mittlere wirksame Hefemenge einfach das arithmetische Mittel zwischen den Gewichten der Hefe am Anfang und am Ende jedes Versuches annahm; die Versuche zeigen aber gerade, dass in den Culturen mit Luft am Anfang eine ausserordentliche Pilzvermehrung stattfindet, die bald sehr abnimmt, während in den Culturen ohne Luft die Pilzentwickelung viel gleichmässiger erfolgt. In Wirklichkeit ist also unter diesen Bedingungen, wenn die Vermehrung der Hefe nicht ausgeschlossen ist, die Gährthätigkeit der einzelnen Zelle bei starkem Luftzutritt noch geringer als sie die Resultate von Pedersen erscheinen lassen[2]).

Im Jahre 1879 stellte Nägeli wie bekannt eine neue Gährungstheorie auf[3]); bezüglich der Einwirkung des Sauerstoffs formulirte er seine Ansicht dahin, dass der freie Sauerstoff bei hinreichender Gährthätigkeit zum Leben der Pilze einerseits entbehrlich sei, anderseits aber die Gegenwart desselben förderlich auf die Gährthätigkeit der Pilze einwirke. Zur Entkräftung der Pasteur'schen Anschauungen wird zunächst auf die Essigätherbildung bei der Alkoholgährung des Zuckers hingewiesen. Wie theoretisch bereits zu ver-

---

[1]) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Kopenhagen 1878. Résumé. Vergleiche auch die schönen, bestätigenden Versuche von Hansen, Meddelelser etc. 1879. Résumé. S. 88.

[2]) Bei drei Versuchen (Nr. 3, 4, 5), die unter sonst gleichen Umständen verschieden lang in Gährung belassen wurden, fanden sich bei der Unterbrechung wohl durch zufällige Umstände veranlasst, beinahe gleiche Hefenmengen gebildet, wogegen die Quantität der flüchtigen Produkte ziemlich genau den Zeiten, durch welche die Gährungen dauerten, entsprechen. Wir haben hier also den experimentellen Nachweis der Unrichtigkeit von Pasteur's Anschauung, die Zeitdauer der Gährwirkung sei gleichgültig.

[3]) Theorie der Gährung. München 1879.

muthen, erfolgt dieselbe immer dann, wenn Alkohol und Essigbildung räumlich an demselben Punkte stattfinden, wenn also die noch ungesättigten Radikale auf einander treffen. Praktisch erhält man in der That den meisten Essigäther, wenn Most in sehr dünner Schicht der Einwirkung der Luft ausgesetzt wird. Es kann dann überall in der Flüssigkeit der bereits entstandene Alkohol durch Spaltpilze zu Essigsäure oxydirt werden, da überall der hierzu nöthige freie Sauerstoff vorhanden ist; gleichzeitig wird unbeirrt durch die Gegenwart des letzteren von der Sprosshefe fortgesetzt neuer Zucker zu Alkohol vergohren. Die beiden Vorgänge finden in unmittelbarer Nähe statt, wir erhalten viel Essigäther.

Ferner beschreibt Nägeli fünf direkte Doppelversuche über die Einwirkung des Sauerstoffs, die mit Sprosshefe bei Ausschluss der Vermehrung derselben durchgeführt wurden. Es kamen einfach Rohrzuckerlösungen ohne Zugabe von weiteren Nährstoffen zur Verwendung; bei sonst gleichen Bedingungen wurde in jedem Doppelversuche in einem Fall der Luftzutritt begünstigt, im anderen vermindert oder gänzlich vermieden. Die Resultate stimmen alle darin überein, dass die mit Sauerstoff gährende Hefe bei Ausschluss der Vermehrung bei Weitem die gährtüchtigere ist.

Im Jahre 1881 erschien eine Abhandlung von Hoppe-Seyler über die Einwirkung des Sauerstoffs auf Gährungen[1]). Der erste darin beschriebene Versuch ist mit Bierhefe ausgeführt. Durch die Anordnung desselben vermochte der freie Sauerstoff jedenfalls sehr vollkommen einzuwirken; dagegen war keine Vorsichtsmassregel getroffen, um das Ueberwuchern von Spaltpilzen zu verhindern und so ergab schon die mikroskopische Untersuchung einen in dieser Hinsicht sehr bedenklichen Befund. Auch die enorme Bildung von flüchtiger Säure gerade bei Portion I (mit stärkster Sauerstoffeinwirkung) weist auf die Thätigkeit von Spaltpilzen hin, welche einen Theil des entstandenen Alkohols bereits wieder zu Essigsäure verbrannt hatten. Bei der nor-

[1]) Festschrift, Strassburg 1881.

malen Alkoholgährung durch Sprosshefe entstehen bekanntlich etwa 50% Alkohol, bezogen auf das Gewicht des vergohrenen Rohrzuckers; beim vorliegenden Versuch fanden sich bei Portion I nur 17,2%, bei Portion II 19,2%, bei Portion III 31,3% des vergohrenen Zuckergewichtes als Alkohol wieder. Bei Portion III, Nährlösung ruhend in einer Flasche mit Gährröhre, hätten jedenfalls die normalen Verhältnisse eintreten müssen; aber auch hier zeigt sich die wesentliche Modification durch die Thätigkeit von Spaltpilzen. Weitere Versuche Hoppe-Seyler's sind mit verschiedenen thierischen Flüssigkeiten und den von vorneherein darin enthaltenen oder aus der Luft hineingerathenen Organismen angestellt und sollten nur zur Orientirung auf dem noch unerforschten Gebiete dienen. Die Versuche mit Eiweisslösungen ergaben eine um so stärkere Zersetzung, je mehr Luft eingewirkt hatte. Ferner zeigte sich, dass auch bei sehr reichlichem Vorhandensein von freiem Sauerstoff Entwickelung von sich lebhaft bewegenden Bacterien erfolgen kann.

Bei im verflossenen Jahr publicirten Versuchen fand Hoppe-Seyler[1]), dass sich in thierischen Flüssigkeiten bei Sauerstoffzutritt mehr Spaltpilze bilden, als ohne solchen. Für Sprosshefe wurde dasselbe Verhältniss sogar zahlenmässig durch Bestimmung der Trockengewichte der entstandenen Hefe festgestellt.

A. Fitz hat in neuerer Zeit einige Beobachtungen über schädliche Einwirkungen auf die Gährthätigkeit von Spaltpilzen veröffentlicht[2]). So richtig nun seine Angaben über den hindernden Einfluss erhöhter Temperaturen sind (übrigens hat darauf Nägeli bereits 1877 hingewiesen), so fraglich erscheinen die Resultate über die Sauerstoffwirkung. Fitz hat eine einzige oder nur wenige Zellen in verhältnissmässig viel Kulturflüssigkeit ausgesät und dabei eine beträchtliche Verminderung oder ein gänzliches Aufhören der Gährthätigkeit gefunden. Ich kann diese Angaben bezüglich des Butyl-

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 214.

2) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XV, S. 877, Bd. XVI, S. 847.

bacillus vollkommen bestätigen. Dieselben verlangen aber eine andere Deutung, sie können nicht durch den Einfluss des freien Sauerstoffs erklärt werden. Bei fortgesetzter Umzüchtung des Butylbacillus in Glycerinfleischextraktlösung, wobei die Culturen durch einen Apparat fortwährend geschüttelt wurden, so dass die Luft auf die nur 1 cm. hohe Flüssigkeitsschicht lebhaft einwirken konnte, zeigte sich absolut keine Verminderung der Gährthätigkeit, die Gläschen rochen ebenso stark als die nicht geschüttelten, und noch dazu früher, nach Butylalkohol. Ein weiterer Versuch wurde von Fitz in der Weise angeordnet, dass die Spaltpilze mehrmals in gährunfähigen Nährlösungen, die der Sauerstoffwirkung sehr ausgesetzt waren, umgezüchtet wurden; hernach hatten sie ihre Gährwirkung eingebüsst. Warum hat Fitz die Verminderung der Gährthätigkeit beim Umzüchten in gährunfähigen Lösungen untersucht? Es ist doch eine den Pilzforschern bekannte Thatsache, dass Pilze, die unter ungünstigen Verhältnissen sich vermehren, im Allgemeinen geschwächt werden. Gährungserreger verlieren dabei ihr Gährvermögen. Doch kann dies keineswegs als Sauerstoffeinwirkung gedeutet werden. Die Versuchsresultate von Fitz sind also keine Beweise.

Die Litteratur über den Einfluss des Sauerstoffs auf Gährungen enthält bisher nur hinsichtlich der Sprosshefe exakte Versuche, die wenigen Experimente mit Spaltpilzen sind vollständig unzureichend.

Eigene Versuche mit Spaltpilzgährungen.

Folgende Gesichtspunkte leiteten mich bei den Versuchen: 1) Es sollte nur eine möglichst bekannte, sehr gährtüchtige Pilzform zugegen sein, ich operirte also immer mit absoluten Reinculturen. 2) Die Einwirkung des Sauerstoffs sollte in der einen Cultur auf alle Weise befördert, in der anderen aber durch Zuleiten eines indifferenten Gases vollständig verhindert werden; auch erschien es wünschenswerth, einen dritten Parallelversuch ohne jede Gaszuleitung

auszuführen. 3. Die Gährthätigkeit sollte nicht nur im Allgemeinen, sondern die Thätigkeit des einzelnen Pilzindividuums festgestellt werden.

Bevor ich nun speciell auf die Versuche eintrete, sind noch einige allgemeine Bemerkungen vorauszuschicken. Bezüglich der Wege zu Sterilisirung, Reincultur und Umzüchten, welche ich benützt habe, mag der Hinweis genügen, dass ich mich der besten, bisher bekannten, besonders auch der in neuester Zeit zu medicinisch-mycologischen Untersuchungen verwendeten Methoden bediente. Dagegen erscheint es unerlässlich, das benutzte Pilzmaterial eingehend zu besprechen.

Pilzmaterial.

Von den auf dem Heu vorkommenden Spaltpilzformen sind bisher drei isolirt und näher untersucht worden. 1. Bacterium Fitz., Glycerinäthylbacterie. Dieselbe habe ich bei den eingehenden Versuchen über den Einfluss des Sauerstoffs auf Gährungen verwendet. 2. Der Glycerinbutylbacillus, das Buttersäureferment (?). Dieser Spaltpilz kam bei den Versuchen über die Eigenbewegung bei Gegenwart von Sauerstoff zur Verwendung. 3. Bacillus subtilis, die Heubacterie.

I. Bacterium Fitz.

Reincultivirung: Hierzu genügt es, wie mein Bruder (Hans Buchner) ausführlich nachgewiesen hat[1]), von der Decke, die sich auf ungekochtem Heuaufguss (bereitet durch 4stündiges Stehen bei 36° C. von Heu mit wenig Wasser) bei Zimmertemperatur nach einigen Tagen bildet, eine geringe Menge in sterilisirte Lösung von 2% Fleischextrakt und 5% Glycerin unter Zugabe der genügenden Quantität Calciumcarbonat zu übertragen[2]). Bei 36° entsteht eine lebhafte

---

[1]) Untersuchungen über die niederen Pilze von C. von Nägeli. München 1881, S. 220. Der Name Glycerinäthylbacterie wird desshalb hier nicht beibehalten, weil es sich mittlerweile herausgestellt hat, dass auch andere Spaltpilze, Glycerin hauptsächlich unter Bildung von Aethylalkohol vergähren.

[2]) Bacterium Fitz. dürfte wohl ebenso wie der Glycerinbutylbacillus ursprünglich aus dem Verdauungskanal der Wiederkäuer stammen.

Gährung; mehrfach fortgesetzte Uebertragung geringer Mengen in die gleiche sterilisirte Culturflüssigkeit führt durch Verdrängung aller übrigen concurrirenden Spaltpilzformen zur Reincultur.

Nährlösungen: Fleischextract als Zusatz zu den Gährflüssigkeiten liefert sehr gutes Nährmaterial. Bei meinen Culturen kam meistens eine Lösung von 2% Fleischextrakt und 5% Glycerin bei Zusatz von 5% Calciumcarbonat in Anwendung; auch in 0,5% Fleischextraktlösung mit 5% Glycerin und 5% Calciumcarbonat entsteht sehr lebhafte Gährung. Dagegen bleiben Culturen in Lösungen von anorganischen Nährsalzen (Monokaliumphosphat, Magnesiumsulfat und Salmiak) mit Glycerin und kohlensaurem Kalk immer spärlich, im Verhältniss zu jenen mit Fleischextract; auch die Zugabe von weinsaurem Ammoniak bringt keine wesentliche Besserung mit sich. In Nährgelatine mit Zucker, Fleischextract und Peptonzusatz wächst Bacterium Fitz. vorzüglich, schon bei Zimmertemperatur; die Gelatine wird nicht verflüssigt; häufig tritt Bildung von Gasblasen in Folge Gährwirkung ein.

Gährvermögen: Glycerin wird durch die Bacterie, wie wir seit den Versuchen von Fitz[1]) wissen, lebhaft vergohren; es entsteht Aethylalkohol, flüchtige und nichtflüchtige Säuren der Fettreihe, ausserdem Kohlendioxyd und Wasserstoff. (Fitz hat jedoch bei diesen Untersuchungen nicht mit Reinculturen gearbeitet, was den Werth der Resultate beeinträchtigt.) Ausserdem wird wahrscheinlich ein kleiner Theil des Glycerins zu Trimethylenglycol reducirt. Zucker wird ebenfalls sehr lebhaft vergohren; es entsteht viel Säure, wie aus der starken Kohlensäureentwickelung bei Zusatz von Calciumcarbonat zu entnehmen ist; der Geruch deutet auf die Bildung von Aethylalkohol. Stärke (Kartoffelstärke) wird durch Bacterium Fitz. ebenfalls vergohren, wenn auch nicht so lebhaft als Glycerin oder Zucker. Geruch nach Aethylalkohol.

---

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. IX, u. ff.

In einer Lösung von milchsaurem Kalk mit Fleischextractzusatz vermehrt sich Bacterium Fitz. sehr rasch. Die Blasenbildung bleibt auch bei Zugabe von kohlensaurem Kalk minimal, da die entstehenden Säuren durch den freiwerdenden Kalk gebunden werden. Auf Zusatz von Schwefelsäure entwickelt sich widerlicher Fettsäuregeruch.

Einwirkung von Jodtinktur: Das in normaler Glycerinnährlösung gezüchtete Bacterium Fitz. wird durch Jod nicht gebläut. Dessgleichen tritt auch bei längeren Stäbchen kein Zerfallen in kürzere Abschnitte ein, selten dass dieselben etwas torulos werden.

Verhalten gegen Gifte: Während Bacterium Fitz. in Lösungen von 5% Glycerin und 2% Fleischextract nebst Calciumcarbonat durch Zusatz von 2,5% Aethylalkohol nicht wesentlich geschädigt wird, ist es in einer sonst gleichen Lösung, aber mit nur 0,5% Fleischextract bereits sehr empfindlich dagegen; es vermehrt sich zwar noch, die Gährwirkung ist aber äusserst gering. In Lösungen von 20% Glycerin, 2% Fleischextract und Calciumcarbonat tritt keine Gährung ein.

Morphologie: Die Entwickelungszustände des Bacterium Fitz. wurden von Hans Buchner genau beschrieben[1]). In der normalen Glycerinfleischextractnährlösung erhält man kurze Stäbchen von etwa 1 μ Breite und 1½—2facher Länge. In Culturen mit Kartoffelstärke oder mit milchsaurem Kalk sind die Stäbchen bei gleicher Breite meist wesentlich länger (bis 7 μ). Sporenbildung erhielt ich einmal in schwach saurer Nährgelatine; die Stäbchen waren in der Mitte etwas angeschwollen und enthielten hier die stark lichtbrechende, grosse Spore. Dieselbe blieb bei dem gewöhnlichen Färbeverfahren mit Anilinfarben ungefärbt, wie dies bei den Sporen der Spaltpilze als Regel bekannt ist.

Bewegungszustände: Bei Aussaat in die normale Glycerinnährlösung zeigen die Stäbchen, wenn der Höhegrad der Gährung erreicht ist (schon nach 12—24 Stunden, je nach Aussaat), nur geringe Eigenbewegung. Die meisten erscheinen ganz ruhig; viele sind in tanzender Bewegung, sie

[1]) L. cit., S. 221.

drehen sich um ihre Axen, ohne den Platz zu verlassen; sehr selten sind Stäbchen mit rascher Ortsbewegung. In älteren Culturen, die auch viele längere Stäbchen enthalten, ist im Allgemeinen die Eigenbewegung eine grössere.

II. Butylbacillus.

Dieser Spaltpilz, welcher bei Zugabe von Glycerin zu Heuwaschwasser die Bildung von normalem Butylalkohol veranlasst, ist noch lange nicht genügend untersucht. Selbst für die Reincultivirung lassen sich bis jetzt keine sicheren, unter allen Umständen zum Ziel führenden Methoden angeben. Ich erhielt eine Reincultur aus mit Glycerin versetztem, gährenden Heuwaschwasser mit Hülfe des Verdünnungsverfahrens. So ausgezeichnete Dienste diese Methode, welche Nägeli bereits seit dem Jahre 1871 anwendet[1]), sonst auch leistet, bleibt sie doch bei Reincultur des Butylbacillus häufig resultatlos. Dieser Spaltpilz stellt nämlich bei Aussaat zu geringer Mengen selbst in die besten Gährlösungen leicht die Gährthätigkeit, wie bereits früher erwähnt, vollständig ein, so dass derartige Culturen nicht zu ordentlicher Entwickelung gelangen. Hierdurch verliert auch die Methode ihre absolute Sicherheit, da das Ausbleiben von Vegetation in vielen der inficirten Kölbchen nicht ausschliesst, dass dennoch Pilze ausgesät wurden, es bleibt also fraglich, ob die benützte Verdünnung genügend war[2]). Nach oftmaliger Umzüchtung (über 30 mal) in sterilisirte Glycerinfleischextractlösung (5% Glycerin, 2% Fleischextract, 5% Calciumcarbonat) machte sich die Gährung immer sehr rasch, schon 12 Stunden nach der Aussaat bemerkbar. Das Pilzmaterial konnte nun als vollkommen einheitlich betrachtet werden, da ausserdem auch die mikroskopische Untersuchung fremde Formen absolut nicht auffinden liess.

Glycerin wird von diesem Bacillus lebhaft vergohren, hauptsächlich unter Bildung von Butylalkohol; ich benutzte gewöhnlich eine 5procentige Glycerinlösung. Eine Lösung

---

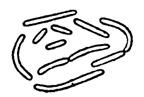
[1]) Untersuchungen über niedere Pilze, S. 12.

[2]) A. Fitz empfiehlt dasselbe Verfahren zur Reincultur seines «Bacillus butylicus» bei Ausgang von Kuhexcrementen. Die beiden Spaltpilze dürften, wie später noch ausgeführt wird, identisch sein.

mit 20% Glycerin blieb trotz zweimaliger grosser Aussaat nach vier Wochen ohne Pilzentwickelung. Auch Rohrzucker wird unter Entwickelung eines starken Geruches nach Butylalkohol vergohren; ebenso Stärke (Kartoffelstärke); bei letzterer dauert jedoch der Beginn der Gährung bei gleicher Aussaat wesentlich länger, als bei Rohrzucker. Bringt man den Butylbacillus in eine Lösung von 5% Calciumlactat, 1% Fleischextract und 1% Kalk, so vermehrt sich derselbe sehr rasch; die mikroskopische Untersuchung zeigt die Stäbchen in lebhafter Bewegung. Nach einigen Tagen tritt deutlicher Geruch nach Butylalkohol auf. Wird die Gährung unterbrochen und Schwefelsäure hinzugesetzt, so stellt sich unverkennbar der Geruch nach Buttersäure ein. Dagegen ist das Aussehen einer Gährung von milchsaurem Kalk natürlich ein ganz anderes, als das einer Rohrzucker- oder Glyceringährung; es tritt selbstverständlich keine grössere Kohlensäureentwickelung ein.

Bei Behandlung des Butylbacillus mit Jodtinctur erhielt ich nie Blaufärbung; es wurde mit frischen und alten Culturen probirt, ja selbst mit Züchtungen in Kartoffelstärke-Fleischextractlösung. Die Stäbchen, auch lange Fäden, zeigten, nachdem sie durch Jod braun geworden waren, kein Zerfallen in kleinere Abschnitte.

In morphologischer Hinsicht erleidet der Butylbacillus je nach den Ernährungsbedingungen grosse Veränderungen. Besonders besitzt er eine grosse Menge von Involutionsformen. Bei Züchtung in der normalen Glycerin-Fleischextraktlösung erhielt ich Stäbchen von 0,6 μ Breite und 2,5—7 μ Länge; daneben kamen in derselben Cultur Fadenformen vor. Sehr häufig sind gekrümmte Stäbchen. Nachfolgend ist das mikroskopische Bild einer solchen Cultur bei 1000maliger Vergrösserung zur Ansicht gebracht.



In jungen Züchtungen des Butylbacillus (in den ersten drei Tagen etwa) ist alles in Bewegung; in älteren erscheint

die Eigenbewegung wesentlich vermindert. Einmal sah ich sogar einen 100 μ langen Faden in fortschreitender Bewegung. Die meisten Stäbchen drehen sich deutlich um ihre Längsaxe und schiessen dabei lebhaft in der Lösung hin und her, gleichgültig, welches Ende gerade vorangeht. Die Eigenbewegung ist also meistens mit Ortsbewegung verbunden. In älteren Culturen kann man oft mehrfach gekrümmte Fäden beobachten, die das Aussehen von Zickzack- bis Wellenlinien besitzen, es fehlt ihnen nur die vollständige Regelmässigkeit der wirklichen Spirillen. Während sich die Fäden aber noch mit Anilinfarben leicht färbten, habe ich auch Involutionsformen getroffen, die den Farbstoff nur theilweise oder gar nicht aufnahmen; es waren dies sehr lange Fäden, die oft die abentheuerlichsten Knickungen und Biegungen zeigten.

Die Sporenbildung erfolgt nach Art von Stecknadelsporen; an dem einen Ende des Stäbchens zeigt sich ein längliches Köpfchen, das die stark lichtbrechende Spore enthält. In einigen Fällen hatten die Bacillen Keulenform angenommen, sie waren wohl in der Sporenbildung begriffen. Während nun in den ersteren Züchtungen nach der Reincultivirung in Glycerinfleischextractlösungen immer Stecknadelsporen zu finden waren, verschwanden dieselben nach oft wiederholter Umzüchtung in gleicher Nährlösung gänzlich.

Es erübrigt noch, das Verhältniss meines Butylbacillus zu Pasteur's Vibrio butyrique, zum Clostridium butyricum von Prazmowski und zum Bacillus butylicus von Fitz zu besprechen. Aller Wahrscheinlichkeit nach müssen dieselben als ein und der nämliche Organismus betrachtet werden. Die chemischen und die morphologischen Eigenschaften stimmen fast völlig überein; die wenigen Abweichungen lassen sich einerseits durch verschiedene Ernährungsmodificationen, andererseits dadurch erklären, dass nicht von allen Forschern immer völlig reines Pilzmaterial benützt wurde. Hierdurch liesse sich z. B. die Blaufärbung einiger weniger

Zellen, wie sie Prazmowski und Fitz bei Behandlung mit Jod manchmal erhalten haben, die ich aber nie beobachten konnte, verstehen (Bacillus amylobacter, van Tieghem!?).

III. Bacillus subtilis.

Dieser Spaltpilz, welcher sich wie die vorhergehenden auf dem Heu vorfindet, sei nur erwähnt, um die bis jetzt bekannten Unterscheidungsmerkmale, welche ihn von den erst beschriebenen trennen, aufzuführen.

Das Reinculturverfahren von Roberts und F. Cohn benützt die grosse Widerstandsfähigkeit der Sporen dieses Bacillus gegen die Siedehitze (eine Stunde einwirkend); die Sporen des Bacterium Fitz., sowie die des Butylbacillus gehen beim Kochen früher zu Grunde. Bacillus subtilis lebt auf ruhenden Culturen ausschliesslich als Decke, wodurch sein grosses Sauerstoffbedürfniss dokumentirt wird; nur in sehr guten Nährlösungen erscheint die Flüssigkeit selbst getrübt. Durch Zusatz von Jodtinktur erfolgt keine Blaufärbung, dagegen zerfallen die meisten längeren Stäbchen in einzelne, getrennte Glieder. In einer Nährlösung von 5 % Glycerin und 2 % Fleischextract bei Zugabe von Calciumcarbonat bilden die Heubacillen lange Stäbchen, welche ganz wesentlich breiter als die des Bacterium Fitz. und die des Butylbacillus sind, so dass sie an ihrer plumpen Form von diesen unterschieden werden können. Bacillus subtilis besitzt in gewissen Stadien der Culturen eine grosse Beweglichkeit, welche an den Butylbacillus erinnert. Wie bekannt, ist die nahe Verwandtschaft des Heubacillus mit dem Milzbrandpilz durch Hans Buchner nachgewiesen worden. Als Gährungserreger wurde Bacillus subtilis noch nie angetroffen.

Im verflossenen Jahre hat G. Vandevelde Studien zur Chemie des Bacillus subtilis veröffentlicht[1]). Der Verfasser betrachtet diesen Spaltpilz als Gährungserreger. Die Versuche Prazmowski's[2]) welcher

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 367.

[2]) Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte einiger Bacterienarten, 1880, S. 19.

zur gegentheiligen Annahme kam, werden als fehlerhaft angesehen. Vandevelde hat aber nur den einen Theil derselben, die Experimente in zugeschmolzenen Röhren, berücksichtigt; es scheint ihm entgangen zu sein, dass Prazmowski wörtlich weiterführt: «Um jedoch vollständige Gewissheit zu erlangen, habe ich noch ein paar Versuche in grösserem Maasstabe ausgeführt.» Dazu wurden Glaskolben von 3 bis 4 Liter Capacität mit Dextrinlösung angewendet; im Allgemeinen verfuhr man nach den Methoden Pasteur's. Gährung trat nicht ein. Hans Buchner äussert sich in derselben Sache, wie folgt: «Nach vielen und vielseitigen Versuchen kann ich nunmehr bestätigen, dass Bacterium subtile in Lösungen, welche die verschiedensten Kohlehydrate enthalten, trotz reichlichster Vermehrung keine Spur von Gährung zu bewirken im Stande ist»[1]).

Wie steht es nun mit den Versuchen von Vandevelde. Seit Pasteur ist es Usus, durch niedere Pilze verursachte Zersetzungsvorgänge dann als Gährungen zu bezeichnen, wenn deren Umfang ausser allem Verhältniss zum Körpergewicht der thätigen Hefe steht und also nicht gut durch den einfachen Stoffwechsel erklärt werden kann. Selbst angenommen, Vandevelde hätte mit Reinculturen des Bacillus subtilis gearbeitet, lassen sich aus den Versuchen doch kaum so grossartige Zersetzungsvorgänge herausfinden. Bei der Einwirkung auf Fleischextract ist natürlich nicht daran zu denken; der Verbrauch an Kreatinin und Fleischmilchsäure zusammen ging nicht einmal über das Gewicht des unlöslichen Theiles der Bacillensubstanz hinaus und dieses war immer bei Weitem grösser als das Gewicht des entstandenen Ammoniaks plus den flüchtigen Fettsäuren, selbst bei Versuchsdauer von vielen Wochen. Bei meinen unten zu beschreibenden Versuchen mit Bacterium Fitz. wurde von den Spaltpilzen innerhalb 29 Stunden an Glycerin das 125fache (Versuch A), das 600fache (B), das 250fache (C) des Trockengewichtes der mittleren Pilzmenge (Pilzmenge am Anfang und Ende dividirt durch zwei) vergohren. Aus Glycerin erhielt Vandevelde folgende «Gährungsprodukte»: Keine Alkohole, etwa 0,5 bis 1,9 gr. flüchtige Fettsäure; 1,27 bis 3 gr. Glycerin wurden zerlegt. Zeitdauer 3½ bis 9 Wochen. Da die Flüssigkeit nur 0,7% Glycerin enthielt und in 0,36% Fleischextract eine gute und genügende Nahrung geboten war, so hätte in der langen Versuchsdauer jedenfalls alles Glycerin angegriffen werden müssen, wenn es sich um Gährungsvorgänge gehandelt hätte; dagegen blieben 4,85 bis 2,41 gr. unzersetzt. Noch deutlicher sprechen die Resultate bei der ersten «Traubenzuckergährung» Vandevelde's. Zeitdauer 7 Wochen, 7,2 gr. Traubenzucker zerlegt, ca. 0,35 gr. flüchtige Fettsäure und 0,7 gr. Milchsäure gebildet. Was ist aus dem übrigen, verschwundenen Traubenzucker geworden? Vandevelde hilft

---

1) Untersuchungen über niedere Pilze, S. 188.

sich durch die Annahme, derselbe sei, wie im zweiten Versuch, in Mannit übergeführt worden; damit stimmt aber die auffallend kleine Menge gebildeter Milchsäure nicht überein. Zum Vergleiche stelle ich eine Rohrzuckergährung durch Bacillus butylicus, wie sie Fitz beschreibt[1]), daneben: Zeitdauer 25 Tage; Zucker zerlegt 77,9 gr.; Buttersäure 80,4 gr., Rohalkohol 0,92 gr. entstanden. Dabei waren noch ungünstige Ernährungsbedingungen (lediglich anorganische Salze) und eine verhältnissmässig hohe Concentration der Zuckerlösung (3%) vorhanden, während Vandevelde mit 0,36 procentiger Fleischextractlösung und nur 0,7 procentiger Traubenzuckerlösung operirte, ferner bei doppelt so grosser Versuchsdauer. Der zweite Versuch von Vandevelde mit Traubenzuckerlösung bringt ein sehr interessantes Resultat. Versuchsdauer 6 Wochen, Traubenzucker verschwunden 10 gr. (alles), gebildet Alkohol 0,8 gr. (ungetrocknet), flüchtige Fettsäuren ca. 0,5 gr., Milchsäure 4,08 gr., Mannit 5,1 gr. Wodurch lässt sich der grosse Unterschied zwischen diesen Ergebnissen und denen des ersten Versuches erklären? Es ist sehr naheliegend, anzunehmen, dass sich bei Versuch 2 eine grössere Anzahl fremder Pilze, namentlich Gährungserreger, eingeschmuggelt hatten. Der gesammte Traubenzucker ist schon nach 6 Wochen zerlegt; Gährungserreger sind durch Abschluss der Luft, wie er bei diesem Versuche stattfand, nicht gährfähigen Formen, besonders auch dem Bacillus subtilis gegenüber im Vortheil, da sie des freien Sauerstoffs leichter entbehren können. Der mikroskopische Befund bei Unterbrechung des Versuches kann allein nicht als Zeugniss für die Reinheit der Cultur angesehen werden, derselbe besagt nur, dass sich keine, sehr auffallend geformten fremden Pilze eingefunden hatten. Allerwenigstens sind also weitere Bestätigungen abzuwarten, bevor die Resultate dieses zweiten Versuches als feststehend erachtet werden können.

Bezüglich der Reinheit der Culturen Vandevelde's im Allgemeinen möchte ich noch Folgendes bemerken: Angenommen, das Ausgangsmaterial sei ein reines, einheitliches gewesen, was aus der Beschreibung des Verfahrens zur Reinzüchtung nicht sicher hervorgeht («Die Flüssigkeit wurde eine Stunde lang erhitzt», die Vorschrift verlangt einstündiges Kochen, wobei selbstverständlich die Zeit des Anwärmens nicht inbegriffen ist[2]), selbst angenommen, das Ausgangsmaterial sei rein gewesen, so kann es sich bei den Versuchsculturen ganz anders verhalten haben. Die Nährlösungen wurden nicht sterilisirt; das Auskochen (in welcher Weise dasselbe geschah, ist nicht angegeben), ist durchaus kein sicheres Verfahren, um die Sporen im Fleischextract, an den Glaswänden oder an den Wattpfropfen zu tödten. Nun mag zwar die Gefahr

---

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XV, S. 874.

2) Untersuchungen über niedere Pilze etc. S. 187. Vergl. auch Fitz: Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVII, S. 1195.

des Aufkommens fremder Pilzformen, besonders von Gährungserregern, bei den Versuchen über die Zersetzung des Fleischextracts selbst bei wochenlanger Versuchsdauer nicht sehr gross sein, ganz anders verhält es sich aber bei den Culturen mit gährfähigen Körpern, mit Glycerin, mit Traubenzucker. Die Ausübung der Gährthätigkeit unterstützt die Gährungserreger im Concurrenzkampf, wie bekannt, ausserordentlich, so dass auch bei ursprünglich minimaler Anwesenheit von solchen nach $3^1/_2$ bis 9 Wochen, bei Unterbrechung der Versuche, von einer Reincultur des Bacillus subtilis nicht die Rede sein darf. Die Resultate der mikroskopischen Untersuchung beweisen, wie schon erwähnt, nur, dass keine auffällig verschiedenen fremden Pilzformen sich eingefunden hatten. «Die Sporen waren kleiner, die Stäbchen schlanker», das ist kein Zeugniss gegen Reinheit der Culturen; ebensowenig kann es aber auch als Beweis für die Reinheit erachtet werden, dass der veränderte Bacillus durch Züchtung bei Gegenwart von Luft in Fleischextractlösung seine frühere Gestalt wieder annahm. Diese Beobachtung macht es nur wahrscheinlich, dass die Mehrzahl der vorhandenen Pilze dem Bacillus subtilis angehörten, woran aber von vorneherein Niemand zweifeln wird.

Darauf, dass die Culturflüssigkeit nicht stark sauer reagirend werde, nimmt Vandevelde trotz der Wichtigkeit dieser Bedingung für das Befinden der Heupilze nur bei den Versuchen mit Glycerin und jenen mit Traubenzucker Rücksicht; wenigstens ist bei den Fleischextractlösungen nichts davon erwähnt. Die Resultate scheinen auch auf diesen Fehler hinzuweisen. Die Mengen entstandener flüchtiger Fettsäuren sind nur bei zwei Versuchen, C und E, bestimmt worden; die Procentzahlen der Bariumsalze derselben, bezogen auf den zugesetzten Fleischextract liegen weit auseinander; berechnet man aber den wirklichen Gehalt an flüchtigen Fettsäuren, bezw. deren Bariumsalze und bringt noch die im Fleischextract hinzugefügte Menge in Abzug, so erhalten wir beinahe dieselben Zahlen, 0,252 gr. für C und 0,222 gr. für E. Dabei war C nur $3^1/_2$ Wochen, E 7 Wochen in Gang, C enthielt 2% Fleischextract, E 1%. Wie kommt nun dieser ähnliche Säuregehalt zu Stande? Ganz einfach; dieser Säuregehalt ist bei Nährlösungen von 500 cc. Volum (in C und E) annähernd die Grenze, über welche hinaus Bacillus subtilis seine Funktionen nicht mehr auszuüben, also auch keine Säure zu bilden vermag. Der Unterschied in der Lage dieser Grenze bei C und E erklärt sich dadurch, dass alle Bacterien bei sehr guter Nahrung (C) andere ungünstige Bedingungen leichter zu ertragen vermögen.

Auch auf das Eintreten von Involutionserscheinungen in alten Culturen hat Vandevelde keine Rücksicht genommen. Der Inhalt der Pilzzellen tritt zum Theil wieder aus den Zellen aus und vertheilt sich in der Flüssigkeit, besonders wenn bei lang dauernden Versuchen ungünstige Lebensbedingungen für die Pilze (stark saure Reaction) herrschen.

Trotz Allem müssen die mühevollen Untersuchungen Vandevelde's als sehr verdienstlich betrachtet werden, zumal sie namentlich in chemischer Hinsicht mit grosser Genauigkeit ausgeführt wurden.

Versuchsanordnung.

Es waren eine ganze Reihe von Versuchen (10 Doppelversuche) nothwendig, um die Methodik soweit auszubilden, dass sie sämmtlichen Anforderungen entsprach. Ich unterlasse es jedoch, auf dieselben einzugehen, da keiner davon als in allen Theilen gelungen bezeichnet werden kann. Die nachfolgenden Angaben beziehen sich daher nur auf den letzten, in jeder Hinsicht entsprechenden Versuch.

Ein Kolben von 500 cc. Inhalt wurde durch einen Wattepfropfen verschlossen, in den zwei rechtwinkelig gebogene Röhren sorgfältig eingewickelt waren. Das erste Glasrohr, a, reichte bis auf den Boden des Kolbens hinab und war an seinem anderen Ende mit einer Wattkappe zugebunden; das zweite Glasrohr, b, endigte kurz unterhalb des Wattepfropfens und enthielt in seinem oberen Theil eine combinirte Watt- und Schlackenwollschicht (auf beiden Seiten durch eine Verjüngung der Röhre festgehalten). Solcher Kolben stellte ich zwei fertig und befreite beide durch Erhitzen im Trockenkasten, eine Stunde lang auf 160°, von den an der Innenwandung oder im Pfropfen befindlichen Pilzkeimen. Nach dem Erkalten wurden die Kolben durch vorher präparirte, tadellose Korkstopfen, die je zwei Durchbohrungen hatten und in der Mitte durchschnitten waren, verschlossen; dieselben liessen sich ohne Herausnahme der Wattepfropfen noch der Röhren einfügen (die Wattepfropfen wurden hierbei etwas nach abwärts gedrückt). Schliesslich wurden die Korke mit einer Schicht von Siegellack und Wachs überzogen, um sie luftdicht zu machen.

Gleichzeitig wurden drei dickwandige, cylindrische Flaschen mit je 200 cc. Gährflüssigkeit zu 5% Glycerin, 0,5% Fleischextract nebst 2 gr. Calciumcarbonat beschickt und im Dampftopf sterilisirt. ($^3/_4$ Stunden Anwärmen, 1 Stunde bei 115°.)

Jede der Flaschen war mit einem Wattepfropfen verschlossen, durch den eine gut eingefügte, rechtwinkelig gebogene Glasröhre bis auf den Boden des Gefässes hinabführte. Der obere Theil der Glasröhre lief in eine feine Spitze aus, über die ein Stück grauen Kautschukschlauches geschoben war; darüber war wieder eine Wattkappe gebunden. Ferner wurden zwei ganz ähnlich beschaffene Flaschen mit je 400 cc. destillirten Wassers ebenfalls im Dampftopf sterilisirt.

Nachdem Alles erkaltet war, ging es an die Füllung der Kolben.

Die Röhren a wurden mit je einem der Gefässe mit sterilisirtem Wasser (durch die schon in diesen befindlichen Glasröhren mit Kautschukschläuchen) verbunden und die Kolben durch Saugen an den Röhren b mittels eines Aspirators bis an die Wattepfropfen mit Wasser gefüllt (die Röhren b schneiden nach Einsetzen der Korke mit den Wattepfropfen ab). Nun wird durch b unter Druck reiner Sauerstoff in den einen Kolben, reiner Wasserstoff in den andern eingeleitet und damit das sterilisirte Wasser (durch die Röhren a) wieder gänzlich hinausgedrängt. Die lange Watt- und Schlackenwollschicht in b befreit hierbei die Gase von allen Pilzkeimen. Jetzt werden die Röhren a mit je einer der Flaschen, in denen sich die sterilisirte Nährlösung befindet, verbunden; man schiebt die verjüngte Spitze der Glasröhren in diesen Flaschen direkt in die Röhren a hinein und stülpt das (schon vor dem Sterilisiren) umgekrempte Ende des Kautschukschlauches darüber (über a); hierdurch ist die Verbindung luftdicht und ohne Gefahr der Verunreinigung durch fremde Pilze hergestellt. Durch Saugen bei b wird nun die Gährflüssigkeit in die Kolben hereingezogen und hierbei durch Schütteln der Flaschen mit den Gährflüssigkeiten Sorge getragen, dass auch der am Boden sitzende Kalk möglichst vollständig herübergesaugt werde. Sodann fügt man an die Röhren a (mit Hülfe der bereits daranbefindlichen Gummischläuche) zwei sterilisirte Glasröhrchen mit langen Watt- und Schlackenwollschichten an, die dazu bestimmt sind, die einzuleitenden Gase, von allen Pilzen zu befreien.

In den Kolben A und B befand sich nun die Gährflüssigkeit als 3,5 cm. hohe Schicht und darüber eine Sauerstoff-, bezw. eine Wasserstoffatmosphäre; beide kamen in den Brütkasten von 37° C. Temperatur und zugleich in den Schüttelapparat zu stehen, welcher die Flüssigkeit alle 10 Sekunden in lebhaftes Schwanken versetzte; weiter wurde durch die Röhren a Sauerstoff bei A, Wasserstoff bei B in kräftigem Strome eingeleitet (während die Röhren b durch einen kurzen Schlauch mit je einem Glasröhrchen mit feiner Oeffnung verbunden wurden, um hier einen beständigen Gasstrom nach

aussen zu erhalten, als Schutz gegen Diffusion). In beiden Kolben lagert sich nach einiger Zeit eine dichte, etwa 0,5 cm. dicke Schicht von Gasbläschen auf die Flüssigkeit, doch wird sie ab und zu durch das Schütteln zerrissen.

Der Sauerstoff war im Gasometer über Wasser aufgefangen worden und strich vor der Einleitung über Natronkalk und Chlorcalcium; der Wasserstoff, aus reinstem Zinn und reiner Salzsäure bereitet, wurde durch Wasser und ferner durch eine Lösung von schwefelsaurem Silber gewaschen und schliesslich auch durch ein U-Rohr mit Chlorcalcium geleitet. Die zur Wasserstoffleitung benutzten Schläuche bestanden aus schwarzem Gummi und hatten 3 mm. Wandstärke; an den Verbindungsstellen waren sie mehrmals festgebunden. Bei einem Drucke von 50 cm. Wasser schlossen die beiden Versuchskolben inclusive der Leitungen vollkommen.

Gleichzeitig mit dem Kolben A und B stellte ich auch die dritte der sterilisirten Flaschen mit Gährflüssigkeit in den Brütkasten, aber nicht in den Schüttelapparat.

Dieselbe hatte 500 cc. Inhalt und cylindrische Form, so dass die 200 cc. Gährflüssigkeit darin eine 5 cm. hohe Schicht einnahmen, demnach betrug die Oberfläche der Flüssigkeit 40 qcm. Ueber die Flasche war eine Wattkappe gebunden.

Nachdem innerhalb drei Stunden ungefähr 3 Liter von jedem Gase in die Kolben A und B eingeleitet waren, konnte man die Gährflüssigkeiten als mit den betreffenden Gasen so ziemlich gesättigt betrachten; die Einleitung wurde unterbrochen und die Gährlösungen in A und B, sowie in C inficirt.

Hierzu waren bereits 24 Stunden früher 6 cbcm. einer Reincultur des Bacterium Fitz. in eine sterilisirte Nährlösung von 60 cbmm. mit 5% Glycerin, 0,5% Fleischextrakt bei Zugabe von 1,5 gr. Calciumcarbonat übertragen worden; diese Nährlösung befand sich in einem sog. Saftgläschen, welches durch einen Wattpfropfen mit zwei eingewickelten Röhren verschlossen war. Die Einrichtung der Röhren, genau gleich derjenigen, welche bei den Flaschen mit Nährlösung oben beschrieben wurde, ermöglichte es, nach der Reihe je eine derselben mit der Röhre a des Kolbens A, dann mit a des Kolbens B luft- und pilzdicht zu verbinden und durch Saugen an den Röhren b einen Theil der Gährflüssigkeit, nachdem dieselbe kräftig umgeschüttelt war, aus dem Saftgläschen in die Kolben hineinzuziehen. Der Rest der Inficirflüssigkeit, etwa ein Drittel derselben, wurde in die Flasche C als Aussaat direkt eingegossen.

Dann kamen sämmtliche drei Versuchsculturen wieder in den Brütkasten und wurde bei A und B die Gaseinleitung aufgenommen (nachdem die Röhren a wieder mit den Glas-

röhrchen mit Wattschicht verbunden waren). An die Röhren b der Kolben A und B fügte man ferner die Absorptionsapparate an, um das entstandene Kohlendioxyd aufzufangen.

Diese Absorptionsapparate bestanden je aus einem Bimssteinthurm mit Schwefelsäure, aus einem Chlorcalciumrohr (diese vier Apparate wurden erst mit CO_2-freiem Sauerstoff, bezw. Wasserstoff gefüllt), aus einem Liebig'schen Kugelapparat mit Kalilauge, aus einem Aetzkalirohr (die letzteren vier Apparate sind abgewogen) und endlich aus einem kleinen Aetzkaliröhrchen zum Schutze gegen von hinten eindringende Feuchtigkeit. Die Absorptionsapparate schliessen unter sich vollkommen und sind durch gute Gummischläuche von 3 mm. Wandstärke mit den beiden Kolben verbunden.

Die in C gebildete Kohlensäure wird nicht bestimmt. Es schien mir der Kautschukverbindungen halber wenig räthlich, den Schüttelapparat während der ganzen Versuchsdauer (29 Stunden) beständig in Gang zu lassen; er wurde daher nur 5 mal für je 15 Minuten in Thätigkeit gesetzt und zwar öfter gegen das Ende des Versuches hinaus; gleichzeitig ward auch immer noch die Gaseinleitung verstärkt. Sonst gestaltete sich die Gasdurchleitung ziemlich regelmässig; sie schwankte zwischen 170 und 380 cbcm. in der Stunde; im Ganzen wurden während des Versuches 8200 cbcm. Sauerstoff und 6200 cbcm. Wassersoff eingeleitet. Das am Ende der Absorptionsapparate von A entweichende Gas, in einem Probirröhrchen über Wasser aufgefangen, entzündet einen glimmenden Spahn sofort, während das durch B streichende, in gleicher Weise aufgesammelt, ohne Knall verbrennt. Ebenso wird das Schliessen der Versuchskolben durch Abquetschen der Gasleitungschläuche hinter denselben mehrmals geprüft; nachdem der Druck ausgeglichen ist, treten keine Blasen in die Kolben. Dagegen ist am Ende des Versuches, wo gerade diese Untersuchung wiederholt wird, für A eine so rasche Absorption des Sauerstoffs durch die Gährlösung zu constatiren, dass der Zutritt von Blasen langsam fortdauert.

Ergebnisse bei Unterbrechung der Versuche.

29 Stunden nach Inficirung wurden die Versuche A, B und C aus dem Brütkasten genommen. Die Gährflüssigkeit

im Kölbchen A, wo der Sauerstoff eingewirkt hatte, war sehr trüb, auf der Oberfläche zeigten sich einige grosse Gasblasen, die bald platzten (von der Sauerstoffeinleitung herrührend); die Flüssigkeit in B (Wasserstoffeinleitung) war merklich weniger trüb, als jene in A. Die Gährlösung in Glas C zeigte sich ähnlich trüb, wie die in B; auf der Oberfläche lagerte aber eine dicke, weisse Schaumschicht, aus ganz kleinen Blasen bestehend, welche nicht zerfloss. Alle drei Flüssigkeiten reagirten beinahe neutral, die in C erwies sich etwas mehr säuerlich als die anderen. Der Geruch war bei allen drei Versuchen derselbe, wie ich ihn stets bei Glyceringährungen durch das Bacterium Fitz. beobachtet habe. Die microscopische Untersuchung der drei Gährflüssigkeiten ergab, soweit danach ein Urtheil gestattet werden kann, überall Reinculturen; es wurden von allen dreien mit Gentiana violet gefärbte Präparate hergestellt und in Canadabalsam aufbewahrt. Die absolute Reinheit der Culturen wurde auf anderem Wege bewiesen, worüber weiter unten berichtet wird.

Folgende drei Fragen sollten nun durch die genaue Untersuchung beantwortet werden:

1. Wie viel Glycerin wurde in jedem Falle vergohren:
2. Wie viel Spaltpilze waren dabei vorhanden.
3. Wie viel Kohlensäure wurde gebildet.

Die letzte Frage stellte ich mir hauptsächlich, um auch eine allenfallsige Veränderung des Gährungsvorgangs in chemischer Hinsicht wahrnehmen zu können.

Glycerinbestimmung.

Von allen bisher bekannten Glycerinbestimmungsmethoden liefert nur die von Clausnitzer brauchbare Resultate[1]). Wie bekannt, verdampft man nach derselben die Glycerinlösung mit einem Ueberschuss von Aetzkalk und bei Zusatz von Marmor auf dem Wasserbade zur Trockne; der Aetzkalk hindert die Verdampfung von Glycerin beinahe vollständig. Der trockene Rückstand oder ein Theil desselben wird dann in einem Extractionsapparat mehrere Stunden lang

---

[1]) Fresenius's Zeitschrift, Bd. XX, S. 58.

durch heissen, wässerigen Alkohol ausgezogen; die Lösung versetzt man mit $^{3}/_{2}$ ihres Volums Aether, filtrirt dann und vertreibt im Filtrat vorsichtig den Aether und einen Theil des Alkohols; wird diese letzte Operation auf dem Wasserbade in einem schiefliegenden Kölbchen vorgenommen, so treten keine Verluste ein. Dann bringt man das Kölbchen aufrechtstehend und mit Filtrirpapierkappe bedeckt in einen Trockenkasten von 100—110° und lässt ihn darin so lange, bis innerhalb zwei Stunden nur mehr eine minimale, constante Gewichtsabnahme erfolgt. Das zurückbleibende Rohglycerin ist wasserfrei, enthält aber noch Aschenbestandtheile und Extractivstoffe. Die ersteren können durch Verdampfen des Glycerins und Glühen des Rückstandes nachträglich bestimmt werden.

Hatte nun Clausnitzer bei Glycerinbestimmungen im Bier annähernd richtige Resultate erhalten, so konnte ich um so eher hoffen, die Methode bei meinen Gährflüssigkeiten verwenden zu können, als hier der Procentsatz an Glycerin ein viel höherer ist, besonders aber gegenüber dem Gehalt der Lösungen an sogenannten Extractivstoffen eine ganz andere Rolle spielt. Mit Rücksicht darauf konnte der Marmorzusatz beim Eindicken von vornherein unterbleiben. Zunächst wurden einige Controlbestimmungen ausgeführt. Der Wassergehalt des zu verwendenden Glycerins durch Trocknen desselben bei 100—110° in der beschriebenen Weise mehrmals ermittelt, stimmte mit dem aus dem specif. Gewicht sich ergebenden völlig überein. Nun wurde eine Lösung bereitet mit 5% Glycerin und 0,5% Fleischextract und mit kohlensaurem Kalk geschüttelt; dann kam eine bestimmte Menge der klaren Flüssigkeit zur Untersuchung. Bezüglich der Methode erwies es sich in der Folge auch erlaubt, bei Glycerinbestimmung in diesen Lösungen das Eindicken und Extrahiren ganz zu unterlassen und den Alkohol und Aether gleich direkt zu der zu untersuchenden Flüssigkeit zuzufügen; im Weiteren blieb ich den Clausnitzer'schen Vorschriften getreu. Versuch II und III in der kleinen Tabelle I sind ohne Eindicken und Extrahiren ausgeführt.

Glycerinprobebestimmungen (Tabelle I).

Nr.	Zugesetztes Glycerin (a).	Gefundenes Rohglycerin (x).	Aschengehalt		Differenz (x—y)—a
	gr.	gr.	in gr. (y)	%	gr.
I.	0,2071	0,218	0,0062	2,85	0,0047
II.	0,2280	0,233	0,0030	1,30	0,0020
III.	0,2280	0,243	0,0029	1,24	0,0031

Die 4. Spalte zeigt die wesentliche Steigerung des Aschengehaltes des Rohglycerins durch das Eindicken mit Aetzkalk. Die letzte Spalte enthält die Menge der gelösten Fleischextractbestandtheile und zeigt zugleich die Grösse der Bestimmungsfehler. Die Methoden erwiesen sich sonach als brauchbar.

Bei Unterbrechung der Versuche A, B und C wurden nun je 5 cbcm. der Gährflüssigkeit entnommen und der Glyceringehalt ermittelt. Bei A und B wurden zwei solcher Bestimmungen ([1] und [2]) ausgeführt. 36 Stunden später, während deren die Gährflüssigkeiten in Schnee gestanden hatten (Temperaturmaximum + 0,6° C.), wurden abermals von A, B und C je 5 cbcm. auf den Glyceringehalt untersucht (3). Von sechs dieser Analysen wurden Aschenbestimmungen im Rohglycerin gemacht; die Resultate schwankten zwischen 2,67 und 3,39% des Rohglycerins, so dass als Durchschnittsaschengehalt 2,95 % in Berechnung gezogen werden konnte. Unter Berücksichtigung des Volumens der Gährflüssigkeiten ergab sich deren Gesammtgehalt an Glycerin (dabei wurde das arithmetische Mittel zwischen den Bestimmungen [1] und [2] in Anrechnung gebracht). Um die Menge des vergohrenen Glycerins zu erhalten, schien es von vorneherein unerlässlich, den Glyceringehalt der Culturflüssigkeiten nach dem Sterilisiren im Dampftopf zu bestimmen. Es wurden von jeder Culturflüssigkeit 5 cbcm. in Untersuchung gezogen. Die Resultate stimmten bis auf 1 mgr., Glycerin war etwas über 9 % verdampft. Weiters musste auch die bei der Inficirung der Gährlösungen hinzu-

gekommene Glycerinmenge berücksichtigt werden[1]). Auf diese Weise liess sich die Gesammtglycerinmenge vor der Gährung ermitteln. Daraus ergibt sich dann im Zusammenhalt mit der Glycerinmenge bei Unterbrechung der Gährung das Gewicht des vergohrenen Glycerins. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle II zusammengestellt.

Resultate der Glycerinbestimmungen (Tabelle II).

	Vor der Gährung.		Nach der Gährung.		Vergohrenes Glycerin.	
	Roh-glycerin in 5 ccm.	Gesammt-glycerin aschefrei.	Roh-glycerin in 5 ccm.	Gesammt-glycerin aschefrei.		
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	%
A (Sauerstoff.)	0,221	8,424	0,174 (1) 0,177 (2) 0,159 (3)	6,522	1,902	22,6
B (Wasserstoff.)	0,220	8,549	0,182 (1) 0,183 (2) 0,168 (3)	7,317	1,232	14,4
C (Controlversuch)	0,220	8,601	0,186 (1) — (2) 0,172 (3)	7,220	1,381	16,1

Da es mir bei früheren Versuchen mit Glyceringährungen durch Bacterium Fitz. sehr wahrscheinlich geworden war, dass auch bei diesen ein kleiner Theil des Glycerins in Trimethylenglycol umgewandelt wird, wie es Freund[2]) und später auch Fitz für Glycerinbutylgährungen festgestellt haben, so hielt ich es für geboten, darauf hin zu untersuchen. 35 gr. Rohglycerinrückstände, welche ich bei sechs Gährungen durch Bacterium Fitz. mit lebhafter Sauerstoffeinleitung erhalten hatte, und 32 gr. Rohglycerin, welche bei Gährungen durch denselben Spaltpilz mit Wasserstoffzufuhr

[1]) Hierbei war es jedoch unmöglich, das in der Inficirflüssigkeit bereits wieder vergohrene Glycerin in Abzug zu bringen. Die Menge desselben ist nicht bekannt; jedenfalls ist sie aber sehr gering (etwa 1%) und kann der dadurch entstehende Fehler nur eine ganz kleine, ausgleichende Aenderung der Verhältnisse zwischen den vergohrenen Glycerinmengen zur Folge haben.

[2]) Monatshefte für Chemie, II, 1881, S. 636.

zurückgeblieben waren, wurden 2 mal mit je 30 ccm. Aether, dann 2 mal mit 30 ccm. Aether- und Alkoholgemisch (2/3 Aether, 1/3 Alkohol) andauernd geschüttelt, die Lösungen von Aether und Alkohol befreit und die Rückstände der Fractionirung unterworfen. Von 200—250° gingen 2 gr. der Rückstände von Sauerstoffgährungen, 1,5 gr. der Rückstände von Wasserstoffgährungen über. Beide Fraktionen wurden nochmals destillirt; zwischen 205 und 220° erhielt ich von beiden nur einige wenige, stark gelb gefärbte Tropfen. Um noch einmal fractioniren zu können, wurden die beiden Portionen vereint. Von 206—208° (uncorrigirt) destillirten ein paar Tropfen, die noch gelb gefärbt waren und gerade zu einer Analyse ausreichten.

	Berechnet für: $C_3H_8O_3$	Berechnet für: $C_3H_8O_2$	Gefunden:	
Kohlenstoff	52,17%	47,37%	Kohlenstoff	47,95%
Wasserstoff	8,70 «	10,53 «	Wasserstoff	10,17 «

Die minimale Bildung von Trimethylenglycol bei der Glyceringährung durch Bacterium Fitz ist also annähernd gleich gross, wird Sauerstoff oder Wasserstoff zugeleitet. Die Bestimmung des vergohrenen Glycerins kann durch diese verschwindenden Unterschiede nicht beeinträchtigt werden.

Stellen wir nun die Menge des vergohrenen Glycerins nebeneinander und setzen wir die bei A (Sauerstoff) gefundene = 100, so ist sie bei B (Wasserstoff) = 64,8, beim Controlversuch C = 72,6.

Bestimmung der Pilzzahlen.

Bringt man eine geringe bekannte Menge (3 cbmm.) der (vorher tüchtig geschüttelten) Gährflüssigkeit, von welcher der Pilzgehalt bestimmt werden soll, in ein bestimmtes Quantum sterilisirten Wassers (9 ccm.), schüttelt kräftig und überträgt hiervon nochmals eine geringe, bestimmte Menge (3 cbmm.) in flüssig gemachte Nährgelatine, so ist der Pilzgehalt der letzteren ein bestimmter Theil der aus der Gährflüssigkeit ursprünglich entnommenen Pilzzahl $\left(\frac{1}{3000}\right)$. Der Pilzgehalt der Nährgelatine ist nun leicht festzustellen. Man erzielt durch ge-

nügendes Hin- und Herbewegen der noch flüssigen Masse eine völlige Vertheilung der Pilze in derselben und giesst dann die Gelatine in ein sterilisirtes Gefäss mit flachem Boden aus (sehr geeignet sind hierzu sog. Erlenmeyer'sche Kölbchen, welche durch Wattpfropfen verschlossen werden); die Gelatine erstarrt und jeder Pilz bleibt inmitten derselben da festgehalten, wo er sich im Moment des Erstarrens gerade befand. Bei Zimmertemperatur entwickelt sich nun allmählich von jedem einzelnen Keime aus eine Colonie, welche schliesslich in Form eines weissen Pünktchens mit freiem Auge sichtbar wird. (Bei Bacterium Fitz. in Nährgelatine mit Zucker, Fleischextract und Peptonzusatz schon nach 5 bis 8 Tagen.) Die Zahl dieser Colonien, deren jede bei richtiger Verdünnung von den übrigen isolirt bleibt, gibt dann im Zusammenhalt mit der Grösse der angewendeten Verdünnung und dem Volumen der ursprünglichen Gährflüssigkeit deren Gesammtpilzgehalt.

In dieser Weise wurde nun die Inficirflüssigkeit sowohl, als die Culturen A, B und C bei Beendigung der Versuche untersucht und zwar jede derselben 3 mal. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle III enthalten.

Pilzzahlen (Tabelle III).

	Pilze in der Gelatine-cultur.	Verdünnungszahl.	Pilze in 1 cbmm.	Pilzmenge am Anfang (Aussaat).	Pilzmenge am Schlusse.
Inficirflüssigkeit.	48	2766 (1)	43 000	—	—
	43	2833 (2)			
	49	2700 (3)			
A (Sauerstoff.)	408	2666 (1)	755 000	727 Millionen	145 000 Mill.
	91	2833 (2)			
	334	2833 (3)			
B (Wasserstoff.)	29	2833 (1)	91 000	877 Millionen	19 000 Mill.
	35	2766 (2)			
	34	2733 (3)			
C (Controlversuch)	48	2800 (1)	223 000	903 Millionen	45 000 Mill.
	110	2800 (2)			
	83	2733 (3)			

Die Verwendbarkeit der beschriebenen Methode für Bestimmung der Pilzzahl in Culturflüssigkeiten hängt, abgesehen davon, dass nicht alle Spaltpilzarten in Nährgelatine gedeihen, von mehreren Umständen ab. Zunächst müssen die Bacterien annähernd gleichmässig in der Flüssigkeit vertheilt sein. Dann ist es selbstverständlich, dass mit dieser Methode nur die Zahl der Pilzstäbchen oder Pilzfäden bestimmt werden kann, dagegen nicht die Zahl der einzelnen Pilzzellen, für den Fall nämlich, dass ein Stäbchen oder ein Faden aus mehreren Zellen zusammengesetzt sein sollte, was bei vielen Spaltpilzarten Regel ist. So wäre die Methode z. B. bei Glycerinbutylgährungen nicht so geeignet, da bei dem Butylbacillus ganz lange Fadenformen neben kurzen Stäbchen in grosser Anzahl zu finden sind. Ferner ist es wesentliche Voraussetzung, dass die Cultur noch jugendlich und kräftig sei, damit sich auch aus jeder Bacterie eine Colonie entwickeln könne. Obgleich alle diese Bedingungen für Bacterium Fitz. und die hier untersuchten Gährlösungen erfüllt waren, zeigte es sich doch unbedingt nöthig, einige von einander völlig unabhängige Bestimmungen auszuführen, wie es Spalte 1 obiger Tabelle ausweist.

Diese Zählmethode gibt zugleich die sichersten Anhaltspunkte für die absolute Reinheit der Culturen. Bald nach dem Sichtbarwerden der Pünktchen in der Gelatine müssen dieselben ganz gleiches Aussehen zeigen, wodurch eben die Gleichartigkeit der vorhandenen Pilze erwiesen wird. Erst später dürfen dann gewisse Verschiedenheiten eintreten, indem z. B. die an der Oberfläche der Gelatine liegenden Colonien unter dem Einflusse des Sauerstoffs rascher wachsen. Bringt man jedoch einen Theil einer solchen different aussehenden Colonie von Neuem in Nährgelatine zur Aussaat, so müssen wieder mit den früheren ganz gleichartige Pünktchen entstehen, unter denen erst nach einiger Zeit dann wieder die oberflächlich liegenden sich viel grösser ausbilden. Auf diese Weise wurde die Reinheit der Culturen in A, B und C sicher erwiesen.

Der 2. Theil der Tabelle III führt die bei den Versuchen am Anfang vorhandene Pilzmenge, also die Aussaat, und die bei Unterbrechung derselben anwesende auf. Hieraus lässt sich die Anzahl der Generationen in jedem Falle berechnen, wir haben während 29 Stunden bei A (Sauerstoff) 7—8 Generationen, bei B (Wasserstoff) 4—5, bei C (Controlversuch) 5—6 Generationen.

Um auf die Gährthätigkeit des einzelnen Pilzes schliessen zu können, ist es nöthig, die Zahl der durchschnittlich thätigen Pilze zu kennen. Den besten Näherungswerth hierfür gibt uns das arithmetische Mittel aus Pilzmenge am Anfang und am Ende. Setzen wir diese Zahl für den Versuch mit Sauerstoff (A) = 100, so ist sie für B (mit Wasserstoff) = 13,5, für C (Controlversuch) = 31,2.

Kohlensäurebestimmung.

Die Bildung von Kohlendioxyd sollte nur bei Versuch A und B verfolgt werden. Die hierzu verwendeten Apparate sind bereits beschrieben worden. Bei Abnahme derselben wurde die Kohlensäure aus den ersten Trockenapparaten noch durch Sauerstoff, bezw. Wasserstoff in die Absorptionsapparate gedrängt und in der üblichen Weise schliesslich trockene, CO_2-freie Luft durchgesaugt. Die Wägung der Apparate führte zu folgenden Ergebnissen:

Kohlensäureproduktion bei A (mit Sauerstoff) 0,6682 gr.
Kohlensäureproduktion bei B (mit Wasserstoff) 0,3925 gr.

Oder setzen wir die bei A entstandene Menge = 100, so ist sie für B = 58,7. Es muss darauf hingewiesen werden, dass der weitaus grösste Theil der Kohlensäure nicht bei der Gährung direkt entstanden ist, sondern erst durch die gebildeten Fettsäuren aus dem zur Neutralisirung beigegebenen Calciumcarbonat freigemacht wurde.

Resultate.

Stellt man die Ergebnisse zusammen, indem man die gefundenen Zahlen beim Sauerstoffversuch immer = 100 setzt, so erhalten wir folgende Tabelle.

Resultate (Tabelle IV).

	Mittlere Pilzzahl.	Vergohrenes Glycerin.	Kohlendioxyd.
A (Sauerstoff.)	100	100	100
B (Wasserstoff.)	13,5	64,8	58,7
C (Controlversuch)	31,2	72,6	—

Hieraus ergibt sich:

1. Die Vermehrung des Bacterium Fitz. wird durch die Anwesenheit freien Sauerstoffs ganz wesentlich begünstigt. Die Zahlen in Tabelle III geben dafür noch nicht einmal den richtigen Ausdruck, da sich die Lebensbedingungen für die Pilze beim Sauerstoffversuch bald schlechter als bei dem mit Wasserstoff gestalteten. (Anhäufung von Zersetzungsprodukten, Nahrungsmangel).

2. Bei gleich grosser Aussaat wird in der nämlichen Zeit mehr Glycerin vergohren, wenn Sauerstoff vorhanden ist, als ohne denselben. Obwohl die Aussaat zu Ungunsten dieser Verhältnisse etwas verschieden waren, verhalten sich die Mengen des vergohrenen Glycerins doch wie 3:2.

3. Die Bildung von Kohlensäure, welche das Maass für sämmtliche Oxydationsvorgänge abgibt, bleibt im Verhältniss zum vergohrenen Glycerin annähernd gleich gross, wird Sauerstoff oder Wasserstoff zugeleitet.

4. Die Gährthätigkeit, berechnet auf den einzelnen Pilz, ist bei Anwesenheit freien Sauerstoffs geringer als bei Abwesenheit desselben. Pedersen hat, wie erwähnt, bei Bierhefe dasselbe Resultat erhalten. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass die nachtheilige Veränderung der Nährlösung bei A (mit Sauerstoff) viel bedeutender gewesen sein wird, als bei B (mit Wasserstoff); die schädliche Anhäufung von Gährungs- und

Ausscheidungsprodukten war grösser, der Vorrath an Nahrungsmitteln bald geringer, ferner der Glyceringehalt vermindert, was bei solch' geringem Procentsatz an Glycerin auch ungünstig für die Gährthätigkeit sein dürfte. Indess halte ich diese Versuchsfehler nicht für ausreichend, um die Resultate wesentlich zu beeinträchtigen, umsomehr als sie zum Theil dadurch compensirt werden, dass die der Berechnung zu Grunde liegende «mittlere Pilzzahl» gerade beim Sauerstoffversuch hinter der wirklich in der Zeiteinheit thätigen Menge jedenfalls zurückbleibt; bei A fand am Anfang eine ausserordentlich rasche Pilzvermehrung statt, während sie bei B gleichmässiger über die Versuchsdauer vertheilt gewesen sein wird.

Für Sprosshefe hat Nägeli bei Ausschluss der Vermehrung die Erhöhung der Gährthätigkeit der einzelnen Zelle nachgewiesen. Wir dürfen kaum bezweifeln, dass es sich bei Spaltpilzen ebenso verhält.

Vielleicht gelingt es einmal, den direkten Nachweis zu führen. Dann wäre bezüglich der Gährthätigkeit ein Unterschied zwischen rasch wachsender und langsam wachsender Zelle zu machen. Die rasch wachsende, lebhaft assimilirende Zelle würde sich dann bezüglich der Gährthätigkeit minder leistungsfähig zeigen, als die zwar lebenskräftige, im Augenblick aber in geringerem Stoffumsatz begriffene, langsam wachsende Zelle, eine Vorstellung, die physiologisch gewiss nicht undenkbar erscheint.

Diese Arbeit wurde im pflanzen-physiologischen Institut des Herrn Professor von Nägeli ausgeführt und sage ich hier für Ueberlassung der Apparate meinen verbindlichsten Dank.

Ueber die Schicksale des Schwefels beim Keimen der Erbsen.

Von

G. Tammann.

(Der Redaktion zugegangen am 21. Februar 1885.)

Der Schwefel ist in den Erbsen theils in Form von schwefelsauren Salzen, theils in organischen Verbindungen (Eiweissstoffen) enthalten.

E. Schulze[1]) fand, dass sich beim Keimen der Lupinen bei Lichtabschluss die Menge der Schwefelsäure vermehrt. O. Kellner[2]) hat bei seinen Studien über die Keimung der Erbsen das Gegentheil gefunden. Nach O. Kellner wird die in ungekeimten Erbsen präformirt existirende Schwefelsäure bei der Keimung reducirt. Es schien nun möglich, diese widersprechenden Angaben bei den verschiedenen Verfahrungsweisen, derer sich die oben citirten Autoren bedienten, zu erklären, wenn in den gekeimten Erbsen Aetherschwefelsäuren existiren. Je nachdem man die Schwefelsäure aus der salzsauren Lösung mit Chlorbaryum fällt, wie es Schulze that, oder die Schwefelsäure mit Barythydrat niederschlägt, wie Kellner verfuhr, wird man verschiedene Mengen schwefelsauren Baryts erhalten, wenn in den Erbsen Aetherschwefelsäuren vorhanden sind, da im ersten Falle ausser der Schwefelsäure noch gepaarte Schwefelsäuren zersetzt und als schwefelsaurer Baryt abgeschieden werden.

---

1) Landwirthschaftliche Versuchsstationen von Nobbe, Bd. XIX, S. 172, 1876.

2) Ebendaselbst, Bd. XVII, S. 415, 1874.

Die zur Untersuchung verwandten Erbsen waren die sogenannten gelben Erbsen, von einem Felde in der Nähe Dorpats geerntet.

Die Erbsen wurden in einer gut schliessenden Flasche aufbewahrt, um Wasserverluste während ihrer Untersuchung zu verhüten.

Durch Zusammenschmelzen des Erbsenmehles mit reinem Natron unter Zusatz von Salpeter in einer Silberschale wurde in bekannter Weise der Gesammtgehalt der Erbsen an Schwefel bestimmt.

Zwei Bestimmungen ergaben 0,356 % SO_3 und 0,362 % SO_3.

Zur Bestimmung der in den Erbsen vorhandenen Schwefelsäure wurde das Mehl derselben mit Wasser wiederholt heiss extrahirt und der Rückstand auf dem Saugfilter heiss ausgewaschen. Die Extrakte wurden vereinigt, und da dieselben auf dem Saugfilter sehr langsam und trübe filtrirten, mit Tannin versetzt. Die entstehende Fällung wurde absitzen gelassen, die klare Flüssigkeit vom Niederschlage geschieden und letzterer ausgewaschen. Schliesslich wurde das Filtrat mit Barytwasser versetzt, der entstehende Niederschlag abfiltrirt und mehrmals mit Salzsäure behandelt. Der Rückstand wurde geglüht und gewogen.

Die ungekeimten Erbsen enthielten nach zwei Bestimmungen 0,067 % SO_3 und 0,073 % SO_3. Nur der 5. Theil des in den Erbsen enthaltenen Schwefels ist in Form von Schwefelsäure vorhanden.

Das Filtrat, aus dem die Schwefelsäure mit Barytwasser entfernt war, wurde mit Salzsäure stark angesäuert und erhitzt. Es schied sich stets ein durch organische Substanzen dunkel gefärbter Niederschlag ab, der abfiltrirt und mit heisser Salzsäure mehrmals extrahirt wurde. Beim Verbrennen hinterliess dieser Niederschlag, gewonnen aus 50 gr. Erbsen, gewöhnlich 2—3 mgr. weissen Rückstand, in dem sich nach dem Aufschliessen mit Soda Schwefelsäure nachweisen liess.

Die Erbsen enthalten also nur Spuren von (gepaarten) Aetherschwefelsäuren.

Abgewogene Mengen derselben Erbsen wurden, nachdem sie 24 Stunden geweicht hatten, auf über Glasschalen gespannten paraffinirten Netzen zum Keimen gebracht. Das Wasser, in dem die Erbsen geweicht hatten, wurde in die Glasschalen gegossen. Darauf wurden die Erbsen unter einer Glasglocke, die erst am 5. Tage entfernt wurde, bei Lichtabschluss der Keimung überlassen:

Nach	5-tägiger	Keimung	enthielten die Erbsen	0,089%	SO_3	bezogen auf ihr ursprüngliches Gewicht.
«	10-tägiger	«	«	0,172 «	«	
«	15-tägiger	«	«	0,160 «	«	
«	20-tägiger	«	«	0,173 «	«	
«	25-tägiger	«	«	0,191 «	«	

Bei der Bestimmung der Schwefelsäure wurde wie bei den ungekeimten Erbsen verfahren. Das Wasser in den Keimschalen wurde mit den Extracten vereinigt. In dem Filtrate, aus welchem die Schwefelsäure mit Barytwasser fortgeschafft war, bildete sich beim Hinzufügen von Salzsäure auf dem Dampfbade stets ein dunkler Niederschlag, dessen Menge jedoch nicht grösser als bei den ungekeimten Erbsen war. Nach zehn Tagen hatte sich, wie aus obiger Zusammenstellung ersichtlich, die Menge der Schwefelsäure beinahe verdreifacht. Dann fand keine weitere Vermehrung derselben statt, aber auch das Wachsthum der Pflanzen schritt nur noch äusserst langsam fort. Einzelne Pflanzen fingen schon am 10. Tage an zu vertrocknen.

Ein Keimversuch wurde im Hellen angestellt, die Erbsen wuchsen an einem nach Süden gelegenen Fenster, doch erhielten sie wenig Licht, da im Oktober der Himmel meist bedeckt war.

33,03 gr. Erbsen enthielten nach 25-tägigem Wachsthum 0,0503 gr. SO_3 (0,152% SO_3) ausserdem waren noch 0,0062 gr. SO_3 (0,019% SO_3) in Form von Aetherschwefelsäuren vorhanden.

Bei der Keimung, sei es im Hellen oder bei Lichtabschluss zerfallen die schwefelhaltigen organischen Verbindungen, und wird der Schwefel derselben wie im thierischen Organismus zu Schwefelsäure oxydirt. Die etiolirt gekeimten Erbsen enthalten nur Spuren von Aetherschwefelsäuren,

Erbsen, welche bei Tageslicht keimten und ergrünten, also auch schon ihre synthetische Thätigkeit begonnen hatten, enthielten bedeutend grössere Mengen Aetherschwefelsäuren.

Es wäre möglich, dass die Aetherschwefelsäuren eine Vorstufe bei der Bildung der Eiweissstoffe sind.

In den Schoten der Erbsen müssten demnach, wenn die Aetherschwefelsäuren Vorstufen der Eiweissstoffe sind, Aetherschwefelsäuren vorhanden sein. 500 gr. frische grüne Schoten wurden in Arbeit genommen, in denselben war keine Spur Aetherschwefelsäure nachweisbar. Doch mögen die Eiweissstoffe nicht in der Schote gebildet werden, sondern denselben schon fertig gebildet zugeführt werden, um sich in denselben abzulagern.

Schliesslich sei noch bemerkt, dass auch der Gehalt der Erbsen an Phosphorsäure bei den etiolirten Keimlingen zunimmt, nicht, wie Kellner angibt, abnimmt.

Aus dem Erbsenextracte wurde zur Bestimmung der Phosphorsäure dieselbe zuerst als phosphorsaure Ammoniak-Magnesia gefällt, der Niederschlag mit ammoniakhaltigem Wasser gewaschen und in Salpetersäure gelöst, mit Molybdänsäurelösung wurde die Phosphorsäure abermals aus der Lösung gefällt und schliesslich als phosphorsaure Magnesia gewogen. Die ungekeimten Erbsen enthielten 0,324 % P_2O_5, zwölf Tage alte etiolirte Erbsenkeimlinge enthielten 0,443 % P_2O_5.

Dorpat, im Dezember 1883.

Zur Kenntniss des Vorkommens von Allantoin, Asparagin, Hypexanthin und Guanin in den Pflanzen.

Von

E. Schulze und **E. Bosshard.**[1])

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 7. März 1885.)

Während der letzten Jahre haben wir Beobachtungen gesammelt, welche sich auf das Auftreten der in der Ueberschrift genannten Stickstoffverbindungen im Pflanzenorganismus beziehen; die Ergebnisse derselben theilen wir im Folgenden mit, in der Hoffnung, dass sie sich als nicht bedeutungslos für die Erkenntniss des Stoffwechsels der Pflanzen erweisen werden.

Im Laufe seiner interessanten Forschungen über die Verbreitung des Aspargins in den Pflanzen und über die physiologische Rolle desselben hat J. Borodin[2]) vermittelst mikrochemischer Reaktionen u. a. nachgewiesen, dass bei vielen Holzgewächsen die jungen Triebe besonders dann sehr reich an Aspargin werden, wenn sie sich an Zweigen entwickeln, welche man vom Stamme abgetrennt und mit dem untern Ende in Wasser gestellt hat. Der Wunsch, zu prüfen, ob in solchem Falle neben Aspargin andere Amide auftreten, veranlasste den Einen von uns, unter Mitwirkung von J. Barbieri eine Untersuchung auszuführen, welche früher schon zur Publikation gelangte.[3]) Dieselbe hatte ein uner-

1) Referat von E. Schulze.

2) Botanische Zeitung, 1878, S. 802.

3) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 25, S. 145, und Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. 13, S. 1602.

wartetes Resultat; in jungen, in der beschriebenen Weise zur Entwickelung gebrachten Sprossen der Platane (platanus orientalis) fand sich ein Stoff vor, dessen Identität mit Allantoin durch chemische und durch krystallographische Untersuchung festgestellt werden konnte.[1]) In vier aufeinanderfolgenden Jahren wurden solche Platanensprossen auf Allantoin untersucht, und dasselbe wurde stets darin vorgefunden. Seine Menge war wechselnd; sie stieg bis auf ca. 1% der Trockensubstanz der Sprossen. Neben Allantoin fand sich stets Asparagin in beträchtlicher Menge vor.

Auch junge, unter normalen Verhältnissen am Baum zur Entwickelung gelangte Platanenblätter enthielten Allantoin, wie schon in der frühern Abhandlung[2]) mitgetheilt worden ist. Die Menge desselben war jedoch sehr gering und in einem Falle wurde bei Verarbeitung solcher Blätter gar kein Allantoin erhalten. Das letztere Resultat ist aber vielleicht durch die Unvollkommenheit der Untersuchungsmethode bedingt worden. Die Blätter wurden nämlich getrocknet, dann mit heissem Wasser extrahirt, der Extrakt durch Behandlung mit Bleiessig gereinigt, hierauf vermittelst Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei befreit und auf ein geringes Volumen eingedunstet, um Allantoin zum Auskrystallisiren zu bringen. Da nun bei solcher Behandlung syrupartige Flüssigkeiten resultirten, so ist es möglich, dass eine darin enthaltene geringe Allantoinmenge durch die anderen in grösserer Quantität vorhandenen Stoffe am Auskrystallisiren verhindert wurde. Später haben wir einen Extrakt aus jungen am Baum gewachsenen Platanenblättern noch einmal nach der weiter unten beschriebenen bessern Methode[3]) auf Allantoin geprüft und dasselbe auch nachweisen können. Aus 440 gr. frischen jungen Blättern erhielten wir ungefähr 0,25 gr. Allantoin. Asparagin schien nicht vorhanden zu sein.

---

[1]) Die krystallographische Untersuchung verdanken wir der Güte des Herrn Prof P. Groth.

[2]) S. 156.

[3]) Nach welcher das Allantoin durch Ausfällung mittelst salpetersauren Quecksilberoxyds u. s. w. gewonnen wird.

Es war von Interesse, zu prüfen, ob das Vorkommen von Allantoin im Pflanzenorganismus ein vereinzeltes, etwa nur auf die Platanen beschränktes sei, oder ob auch andere Pflanzen diesen Stoff enthalten. Wir haben daher zunächst noch mit einer Anzahl von Holzgewächsen Versuche angestellt. Die mit Knospen besetzten Zweige wurden im Frühjahr (kurz vor dem Zeitpunkt, in welchem die Knospen aufzubrechen begannen) von den Bäumen abgeschnitten, mit dem untern Ende in Wasser gestellt und so bei Zimmertemperatur belassen, bis die jungen Sprossen kein merkliches Wachsthum mehr zeigten; dann wurden die letzteren von den Zweigen abgetrennt.

Ueber die Art und Weise, in welcher wir diese Sprossen untersuchten, ist Folgendes zu bemerken: Anfangs trockneten wir dieselben bei einer Temperatur von 50—60°, zerkleinerten sie sodann und extrahirten sie mit heissem Wasser (in einigen Fällen mit heissem, stark verdünntem Alkohol). Die Extrakte versetzten wir mit Bleiessig, so lange ein Niederschlag entstand; dann filtrirten wir, entfernten aus dem Filtrat das gelöste Blei durch Schwefelwasserstoff, dunsteten die vom Schwefelblei abgelaufene Flüssigkeit im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein und liessen sie dann über Schwefelsäure stehen, bis sich Krystalle ausschieden. Später fanden wir es zweckmässiger, das folgende Verfahren anzuwenden: Die Sprossen wurden in frischem Zustande zerkleinert, dann mit heissem Wasser extrahirt, die Extrakte mit Bleiessig versetzt, so lange noch ein Niederschlag entstand; den von den Bleiniederschlägen abfiltrirten Flüssigkeiten fügten wir sodann eine wässerige Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd[1]) in schwachem Ueberschuss zu. Die durch dieses Reagens hervorgebrachten weissen Niederschläge wurden, nachdem sie abfiltrirt und mit kaltem Wasser ausgewaschen

[1]) Die für obigen Zweck verwendete Lösung erhielten wir, indem wir ein krystallinisches Präparat von salpetersaurem Quecksilberoxyd (bezogen von H. Trommsdorff in Erfurt) mit kaltem Wasser behandelten und das ungelöst bleibende basische Salz durch Filtration entfernten.

worden waren, in Wasser aufgerührt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirten Flüssigkeiten neutralisirten wir mit Ammoniak und dunsteten sie im Wasserbade bei gelinder Wärme auf ein geringes Volumen ein. Nach einiger Zeit lieferten alle diese Flüssigkeiten Krystallisationen, welche stets der Hauptsache nach aus Asparagin bestanden.

Es war nun unsere Aufgabe, diese Krystallisationen auf Allantoin zu prüfen. Anfangs glaubten wir für diesen Zweck die Fällbarkeit des letzteren Stoffes durch Silbernitrat und Ammoniak verwerthen zu können. Es zeigte sich jedoch, dass in einer Lösung, welche neben Allantoin sehr viel Asparagin enthält, durch Zusatz von Silbernitrat und darauf folgendes Zutröpfeln von Ammoniakflüssigkeit kein Niederschlag hervorgebracht wird (erst nach längerer Zeit scheidet sich meist eine geringe Menge eines solchen aus). Die Gegenwart des Asparagins hindert also bis zu gewissem Grade die Ausfällung des Allantoins und es ist somit nicht möglich, auf dem angegebenen Wege letzteren Körper vom Asparagin zu trennen, falls dieses in sehr grosser Menge vorhanden ist.

Der Nachweis beider Körper neben einander und ihre Trennung gelingt jedoch auf anderem Wege ohne Schwierigkeit. Wenn man ihre wässerige Lösung in der Hitze mit Kupferoxydhydrat sättigt und dann erkalten lässt, so scheidet sich das Asparagin grösstentheils in Form seiner sehr schwer löslichen Kupferverbindung aus (durch Einengen der Flüssigkeit kann man eine noch vollständigere Ausscheidung dieser Verbindung erzielen). Man bringt das Asparaginkupfer auf ein Filter, wäscht mit heissem Wasser aus, befreit das Filtrat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom gelösten Kupfer und dunstet es sodann auf ein geringes Volumen ein. Ist Allantoin vorhanden, so krystallisirt es aus,[1]) während die

---

[1]) Ueber das Verhalten des Allantoins zum Kupferoxydhydrat ist Folgendes zu bemerken: Nach den Angaben in Gmelin's Handbuch der Chemie, Suppl., S. 936, soll Allantoin beim Kochen mit Kupferoxydhydrat und Wasser eine blaue Lösung geben, aus welcher grüne Krystalle (eine Verbindung von 6 Mol. Allantoin und 1 Mol. CuO)

noch in der Flüssigkeit befindliche geringe Asparaginmenge in Lösung bleibt. Sollte aber etwa ein Gemenge von Allantoin und Asparagin auskrystallisiren, so ist es nicht schwierig, das letztere, da es leichter löslich ist als Allantoin, durch Umkrystallisiren zu beseitigen.

Ob eine Krystallisation aus Allantoin oder aus Asparagin besteht, ist leicht festzustellen, da die Formen, in denen die beiden Körper krystallisiren, so verschieden sind, dass man sie in der Regel schon mit unbewaffnetem Auge unterscheiden kann — da ferner die Asparaginkrystalle beim Erhitzen auf 100° unter Verlust des Krystallwassers weiss und undurchsichtig werden, während die wasserfreien Allantoin-Krystalle sich bei 100° nicht verändern. Auch ist leicht zu ermitteln, ob ein Allantoin-Präparat frei von Asparagin ist oder nicht. In ersterem Falle wird es bei 100° nicht an Gewicht abnehmen, wenn man es zuvor an der Luft oder über Schwefelsäure getrocknet hat.

Bei der Identifizirung des Allantoins kann man sich auf folgende Merkmale stützen: Das Allantoin krystallisirt in kleinen glänzenden Prismen, welche sich sehr schwer in kaltem, leichter in kochendem Wasser lösen. Die mit Silbernitrat vermischte wässerige Lösung gibt beim Zutröpfeln von Ammoniakflüssigkeit einen weissen, rasch zu Boden sinkenden Niederschlag. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird die wässerige Lösung noch bei starker Verdünnung gefällt. Erhitzt man Allantoin mit Kalilauge, so entwickelt sich Ammoniak; die mit Essigsäure übersättigte Zersetzungsflüssigkeit gibt auf Zusatz von Chlorcalcium einen weissen Niederschlag von

---

sich ausscheiden. Wir erhielten jedoch beim Erhitzen einer Allantoin-Lösung mit viel Kupferoxydhydrat eine nur ganz schwach gefärbte Flüssigkeit, aus welcher nach dem Filtriren und Eindampfen das Allantoin sich anscheinend unverändert wieder ausschied. Dem Kupferoxydhydrat schien jedoch eine geringe Menge einer unlöslichen Allantoin-Verbindung sich beigemischt zu haben; denn dasselbe entwickelte (nach dem Auswaschen und Trocknen) beim Glühen mit Natronkalk Ammoniak. Es ist demnach möglich, dass man bei dem von uns angewendeten Trennungsverfahren etwas Allantoin verliert.

Calciumoxalat. Das Asparagin andererseits kann man, auch ohne Ausführung analytischer Bestimmungen und ohne Krystallmessungen, an folgenden Eigenschaften erkennen: Es krystallisirt in durchsichtigen Krystallen, welche bei langsamer Ausbildung eine bedeutende Grösse erreichen; sie enthalten Krystallwasser (12%), welches bei 100° entweicht, und zeigen im polarisirten Licht ein schönes Farbenspiel. Sättigt man die wässerige Lösung in der Hitze mit Kupferoxydhydrat, so erhält man eine lasurblaue Flüssigkeit; beim Erkalten scheidet sich aus derselben eine feinkrystallinische Kupferverbindung aus, welche (wenigstens in reinem Zustande) schön blau mit einem Stich in's Violette ist. Beim Erhitzen mit verdünnter Kalilauge entwickelt das Asparagin lebhaft Ammoniak. Erhitzt man es mit sehr verdünnter Salzsäure, so entsteht in der Flüssigkeit ein Ammoniaksalz (am leichtesten nachzuweisen, indem man die Flüssigkeit nach dem Erkalten neutralisirt und sodann Nessler'sches Reagens zufügt). Will man bei der Identifizirung des Asparagins zur grössern Sicherheit noch eine analytische Bestimmung zu Hülfe nehmen, so empfiehlt sich für diesen Zweck die leicht auszuführende Bestimmung des Krystallwasser-Gehalts.

Nach dem angegebenen Verfahren haben wir ausser in den Platanensprossen noch in den jungen, in der früher beschriebenen Weise zur Entwickelung gebrachten Sprossen von Acer pseudoplatanus und Acer campestre Allantoin neben Asparagin nachweisen können. Die für Allantoin zu erklärenden Krystalle stimmten im Aussehen mit Allantoin überein und zeigten das oben angegebene Verhalten des letztern. In dem aus Acer pseudoplatanus abgeschiedenen Präparat wurde auch der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl's Methode bestimmt,[1]) mit folgendem Resultat:

0,2134 gr. Substanz gaben 0,07503 gr. N in Ammoniakform.

	Berechnet für $C^4H^6N^4O^3$	Gefunden
N	35,44%	35,16%.

[1]) Für ein Allantoin-Präparat unserer Sammlung wurde in einer zur Controle ausgeführten Bestimmung nach der gleichen Methode ein Stickstoffgehalt von 35,33% gefunden.

Ueber die Quantität, in welcher das Allantoin erhalten wurde, ist Folgendes zu bemerken:

1 Kilogr. der frischen Sprossen von Acer pseudoplatanus (= 170 gr. Trockensubstanz) gab ungefähr 0,5 gr. Allantoin, daneben 5 gr. Asparagin.

Wir haben die jungen Sprossen der beiden Acer-Arten in zwei auf einander folgenden Jahren für die Untersuchung verwendet. Bei Acer pseudoplatanus fanden wir in beiden Jahren Allantoin vor, bei Acer campestre war im ersten Jahre das Resultat ein unsicheres;[1]) im zweiten Jahre erhielten wir aber auch aus diesem eine Substanz, welche alle oben angegebenen Merkmale des Allantoins zeigte.

Ein negatives Resultat lieferte die Prüfung auf Allantoin bei den jungen in der beschriebenen Weise zur Entwickelung gebrachten Sprossen von Betula alba, Fagus silvatica, Tilia parvifolia, Populus nigra und Vitis vinifera (wenn etwa auch hier Allantoin vorhanden war, so kann dasselbe doch jedenfalls nur in höchst geringer Menge sich vorgefunden haben). Alle diese Objekte enthielten Asparagin. Dasselbe wurde stets in gut ausgebildeten Krystallen erhalten, welche die früher angegebenen Eigenschaften zeigten. In vier Präparaten wurde der Krystallwassergehalt bestimmt, mit folgendem Resultat:

1. Asparagin aus Acer pseudoplatanus: 0,3116 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0378 gr. an Gewicht.
2. Asparagin aus Acer campestre: 0,4322 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0518 gr. an Gewicht.
3. Asparagin aus Fagus sylvatica: 6,4628 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0564 gr. an Gewicht.
4. Asparagin aus Populus nigra: 0,2980 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0362 gr. an Gewicht.

---

[1]) Aus den im ersten Jahre untersuchten Sprossen von Acer campestre erhielten wir in geringer Menge einen Stoff, welcher zwar im Uebrigen dem Allantoin glich, bei dessen Zersetzung wir aber keine Oxalsäure zu erhalten vermochten. Vielleicht misslang der Versuch, weil wir nur eine sehr geringe Substanzmenge für denselben verwenden konnten. Wir haben dieses Resultat, sowie das bei Acer pseudoplatanus erhaltene, schon kurz mitgetheilt in einer Abhandlung in den «Landwirschaftlichen Jahrbüchern», herausgegeben von H. Thiel, XII, S. 919.

	Berechnet für $C^4H^8N^2O^3 + H^2O$	Gefunden 1.	2.	3.	4.
H_2O	12,00%	12,13%	11,98%	12,10%	12,14%

Zur Entdeckung eines weitern Vorkommens von Allantoin im Pflanzenorganismus führten Versuche, welche Aufschluss über die Formen geben sollten, in denen in den Stammtheilen der Holzgewächse zur Zeit der Winterruhe der Stickstoff sich vorfindet. Wir untersuchten dabei zunächst die Rindenschicht. Dieselbe wurde von den gegen Ende Oktober oder Anfang November von den Bäumen abgeschnittenen Zweigen [1]) abgetrennt, dann zerkleinert und mit heissem Wasser extrahirt. Die Extrakte versetzten wir, nachdem sie von den durch Bleiessig fällbaren Substanzen befreit worden waren, mit salpetersaurem Quecksilberoxyd. Die so erhaltenen, dem Volumen nach nicht bedeutenden Niederschläge zersetzten wir durch Schwefelwasserstoff und dunsteten die vom Schwefelquecksilber abfiltrirten Flüssigkeiten, nachdem sie mit Ammoniak neutralisirt worden waren, im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. In zwei Fällen erhielten wir Allantoin, nämlich bei Verarbeitung von Rinden von Aesculus hipocastanum und von Acer pseudoplatanus.

Ueber die Einzelheiten der Versuche ist noch Folgendes zu berichten: Die Rinde von Aesculus hipocastanum lieferte wegen ihres Aesculin-Gehalts einen fluorescirenden Extrakt. Die Flüssigkeit, welche bei Verarbeitung des in diesem Extrakt durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebrachten Niederschlags erhalten wurde, färbte sich während des Eindunstens ziemlich dunkel. Sie lieferte eine krystallinische Ausscheidung, welche aus zwei verschiedenen Substanzen bestand. Die eine beim Umkrystallisiren sich zuerst wieder ausscheidende Substanz erwies sich als Allantoin. Sie zeigte das für diesen Körper oben angegebene Verhalten, stimmte aber auch in der Krystallform mit demselben vollständig überein — nach einer Untersuchung, welche wir der Güte des Herrn Professor

---

1) Es wurden hauptsächlich Zweige von mittlerer Stärke für die Versuche verwendet.

P. Groth verdanken; der Genannte theilte uns über die Resultate dieser unter seiner Leitung von Herrn Dr. Vater ausgeführten Untersuchung Folgendes mit:

«Die übersendete Substanz erwies sich als vollkommen identisch mit den früher gemessenen Präparaten unzweifelhaften Allantoins (man vergl. Zeitschrift für Krystallographie, Bd. 8, Seite 505). Es waren zwar keine messbaren Endflächen vorhanden, aber die vorherrschende Form c (001), a (100), d ($\bar{1}01$) war messbar entwickelt und die Lage der optischen Axen konnte mit aller Sicherheit constatirt werden.»

Die zweite, nach dem Allantoin auskrystallisirende, Substanz [1]) erwies sich als Aesculin. Sie zeigte in alkalischer Lösung schön blaue Fluorescenz; die Auflösung in Salpetersäure gab auf Zusatz von Ammoniak die für Aesculin charakteristische Rothfärbung. Die wässerige Lösung der durch Umkrystallisiren gewonnenen Substanz gab mit salpetersaurem Quecksilberoxyd keinen Niederschlag mehr (was auch für Aesculin anderer Herkunft gilt); es ist daher nicht recht ersichtlich, warum das Aesculin in den Quecksilberniederschlag eingegangen war.

Das aus der Rinde von Acer pseudoplatanus gewonnene Allantoin zeigte die für diesen Körper oben als charakteristisch angegebenen Merkmale. Eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode gab folgendes Resultat:

0,2038 gr. Substanz gaben 0,072391 gr. N in Ammoniakform.

	Berechnet für $C^4H^6N^4O^3$	Gefunden
N	35,44 %	35,52 %.

Aus einem Kilogramm der frischen Rinde von Acer pseudoplatanus wurde ungefähr ein halbes Gramm Allantoin erhalten.

Im Hinblick auf die im Vorigen mitgetheilten Ergebnisse erwarteten wir auch in der Rinde von Platanenzweigen

---

[1]) Natürlich war derselben Anfangs noch etwas Allantoin beigemengt.

Allantoin zu finden. Der Niederschlag, welcher in einem Extrakt aus solcher Rinde durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebracht wurde, lieferte aber nur Krystalle, welche sich bei der näheren Untersuchung als Asparagin erwiesen.

In den Extrakten, welche aus den Rinden der Zweige von Eichen, Eschen und Linden dargestellt wurden, vermochten wir weder Allantoin noch Asparagin nachzuweisen. Die Flüssigkeiten, welche bei Verarbeitung der in diesen Extrakten durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebrachten (dem Volumen nach nicht bedeutenden) Niederschläge erhalten wurden, färbten sich während des Eindampfens sehr dunkel und lieferten auch bei längerem Stehen keine Krystalle von Allantoin oder Asparagin.

In vier verschiedenen Holzgewächsen konnte also Allantoin nachgewiesen werden. Wenn man nach dem Ursprung desselben frägt, so lässt sich darauf eine bestimmte Antwort zur Zeit nicht geben. Für die Annahme, dass die Allantoin-Bildung mit dem Zerfall von Eiweissstoffen in Zusammenhang steht,[1]) könnte der Umstand sprechen, dass in den jungen Sprossen der Holzgewächse neben Allantoin das Asparagin auftritt, welches mit Sicherheit als Eiweisszersetzungsprodukt anzusehen ist, und dass mit der Anhäufung des letztern (bedingt durch die Art und Weise, in welcher wir die Sprossen sich entwickeln liessen) allem Anschein nach auch das Allantoin sich anhäuft (wenigstens für die Platanensprossen dürfte letzteres als erwiesen anzusehen sein). Der obigen Annahme scheint vielleicht der Umstand entgegenzustehen, dass nicht in allen in der beschriebenen Weise zur Entwickelung gebrachten Sprossen von Holzgewächsen Allan-

---

[1]) Da Allantoin aus Harnsäure dargestellt werden kann, da man ferner eine chemische Verwandtschaft zwischen der Harnsäure einerseits und dem Hypoxanthin und Xanthin andererseits wenigstens vermuthet, so könnte man auch fragen, ob nicht vielleicht die Bildung von Allantoin zum Auftreten von Hypoxanthin und Xanthin in den Pflanzen in Beziehung stände.

toin neben Asparagin nachzuweisen war. Es ist jedoch denkbar, dass in solchen Sprossen stets Allantoin entsteht, aber nur in einzelnen Fällen sich anhäuft, meistens nach der Bildung wieder umgewandelt wird. Etwas Aehnliches scheint ja für gewisse mit ziemlich grosser Sicherheit als Produkte der Eiweisszersetzung anzusehende Substanzen zu gelten; wir erinnern daran, dass z. B. nur in den Keimlingen des Kürbis das Tyrosin bis jetzt in etwas grösserer Menge aufgefunden worden ist, während die Keimlinge anderer Gewächse nur minimale Quantitäten davon zu enthalten scheinen. Dass in den letzteren Keimlingen beim Eiweisszerfall gar kein Tyrosin entsteht, ist kaum anzunehmen; viel wahrscheinlicher ist es, dass das Anfangs gebildete Tyrosin rasch wieder umgewandelt wird und daher bis auf einen sehr geringen Rest verschwindet. Etwas Aehnliches könnte für das Allantoin gelten. Besässe man ein Reagens, vermittelst dessen man Spuren von Allantoin in Flüssigkeiten nachweisen könnte, so würde man diesen Stoff vielleicht in den Extrakten aus den jungen Sprossen der Holzgewächse stets nachzuweisen vermögen. Dass aber auf dem von uns eingeschlagenen Wege das Allantoin nicht in Substanz zur Abscheidung gebracht werden kann, wenn es nur in sehr geringer Menge sich vorfindet, ist wohl sehr wahrscheinlich.

Im Hinblick auf die im Vorigen aufgeworfene Frage erschien es angezeigt, zu prüfen, ob nicht in Keimpflanzen Allantoin neben Asparagin aufzufinden ist. Ausserordentlich reich an Eiweisszersetzungsprodukten, insbesondere an Asparagin, sind bekanntlich die etiolirten Lupinenkeimlinge. Dass in solchen Keimlingen Allantoin nicht in grösserer Menge vorhanden sein kann, lehrten schon die Untersuchungen, welche der Eine von uns in Verbindung mit mehreren Mitarbeitern früher ausgeführt hat. In den zahlreichen Versuchen, die in den genannten Keimlingen vorhandenen Stoffe durch Krystallisation aus den Extrakten zu gewinnen, wurden niemals Krystalle erhalten, welche die Eigenschaften des Allantoins zeigten, und die aus jenen Extrakten gewonnenen Krystallisationen von Asparagin, denen das schwer lösliche

Allantoin hätte beigemengt sein können, gaben bei der Analyse (Stickstoff- und Wasser-Bestimmung) Zahlen, welche auf die Zusammensetzung des reinen Asparagins passten. Trotz dieser Ergebnisse war es aber doch denkbar, dass in den Lupinenkeimlingen sehr geringe Allantoinmengen neben Asparagin sich vorfanden. Wir haben daher noch einige Versuche in der Weise ausgeführt, dass wir die aus etiolirten Lupinenkeimlingen dargestellten wässerigen Extrakte zuerst mit Bleiessig, dann (nach der Filtration) mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzten und die durch das letztere Reagens hervorgebrachten Niederschläge in der früher beschriebenen Weise verarbeiteten. Bei Ausführung dieser Versuche zerlegten wir die etiolirten Keimlinge in drei Theile; wir trennten die Cotyledonen von den Axenorganen (Wurzel und hypokotyles Glied) und von dem verkümmerten ersten Blättchenpaar, welches an solchen Keimlingen sich entwickelt. Jeder dieser Theile wurde für sich extrahirt und der Extrakt in der beschriebenen Weise behandelt. Die bei Verarbeitung der Quecksilberniederschläge resultirenden Flüssigkeiten lieferten in allen Fällen beträchtliche Asparagin-Krystallisationen. Wir prüften dieselben auf eine Beimengung von Allantoin, aber mit negativem Resultat. Als das Asparagin in Form der Kupferverbindung zum grössten Theil zur Ausscheidung gebracht, die restirende Flüssigkeit vermittelst Schwefelwasserstoff vom gelösten Kupfer befreit und dann auf ein geringes Volumen verdunstet wurde, krystallisirte noch etwas Asparagin aus.[1]) Krystalle vom Aussehen und Verhalten des Allantoins kaben wir niemals erhalten.

Auch bei Verarbeitung der Quecksilberniederschläge, welche in wässerigen Extrakten aus Kürbiskeimlingen durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebracht wurden,

---

[1]) Die bei Verarbeitung der Cotyledonen in der beschriebenen Weise erhaltene Flüssigkeit lieferte neben Asparagin in geringer Menge eine im Aussehen fast dem Glutamin gleichende Substanz. Ueber die Natur derselben vermögen wir zur Zeit noch keine näheren Angaben zu machen.

haben wir bis jetzt kein Allantoin erhalten können. Dass trotz dieses negativen Resultates in den Keimpflanzen neben Asparagin, Glutamin u. s. w. sehr geringe Allantoin-Mengen vorhanden sein können, ist zuzugeben.

In Bezug auf die Bildung von Asparagin im Pflanzenorganismus machten wir im Frühling des vorigen Jahres eine nicht uninteressante Beobachtung. Um Aufschluss über die nicht eiweissartigen Stickstoffverbindungen zu gewinnen, welche in Futtergewächsen enthalten sind, wurden die oberirdischen Theile junger, frisch vom Felde genommener Gras-, Hafer- und Rothklee-Pflanzen [1]) zerkleinert und mit heissem Wasser extrahirt, die Extrakte zur Reinigung mit Bleiessig behandelt, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt. Die durch letzteres Reagens hervorgebrachten, der Quantität nach nicht bedeutenden Niederschläge verarbeiteten wir dann eben so, wie es früher beschrieben worden ist. Aus den dabei resultirenden Flüssigkeiten krystallisirte nur in einem Falle, nämlich bei Verarbeitung von jungem Rothklee, Asparagin aus, und die Quantität desselben war nur eine sehr geringe (1 kg. frische Pflanzen lieferte nur ungefähr 0,25 gr. davon); aus Hafer und aus Gras wurde kein Asparagin erhalten.

Ganz anders war das Resultat, als wir Pflanzen der gleichen Art untersuchten, nachdem dieselben, mit den abgeschnittenen Stengeln in Wasser gesteckt, etwa eine Woche lang in einem dunkeln Zimmer vegetirt hatten. Die daraus dargestellten wässerigen Extrakte gaben nun (nach Beseitigung der durch Bleiessig fällbaren Substanzen) sehr starke Niederschläge mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und bei Verarbeitung dieser Niederschläge wurden in allen Fällen beträchtliche Krystallisationen von Asparagin erhalten. Besonders gross war die in der beschriebenen Weise aus dem Hafer darstellbare Asparagin-Quantität; 900 gr. frische Pflanzen

---

[1]) Diese oberirdischen Theile hatten beim Hafer eine Länge von ca. 40 Centimeter, beim Rothklee eine solche von 20—30 Centimeter.

(welche wohl kaum mehr als 160—170 gr. Trockensubstanz enthielten) lieferten 3,1 gr. Asparagin. Dass bei der zur Anwendung gekommenen Gewinnungsmethode Verluste nicht zu vermeiden sind, liegt auf der Hand;[1]) die im Ganzen vorhandene Asparagin-Quantität war also ohne Zweifel noch grösser, als die zur Abscheidung gebrachte Menge. Geringer war die aus dem in der beschriebenen Weise behandelten Rothklee gewinnbare Asparagin-Menge; 800 gr. frische Pflanzen lieferten ungefähr 1,7 gr. Asparagin. Die aus dem Gras darstellbare Asparagin-Quantität ist nicht näher bestimmt worden. Allantoin vermochten wir in diesen Fällen nicht neben dem Asparagin aufzufinden.

Dass in den jungen Pflanzen unter den angegebenen Versuchsbedingungen Eiweiss zerfallen und Asparagin sich bilden würde, war nach den von Borodin[2]) gemachten Beobachtungen zu erwarten. Unerwartet aber war es uns, dass die Asparaginbildung binnen weniger Tage in so starkem Masse erfolgte. Um den mit diesen Vorgängen verknüpften Verlust an Eiweissstoffen annähernd quantitativ festzustellen, haben wir sowohl in den direkt dem Felde entnommenen, wie in den ca. eine Woche lang in Wasser cultivirten Pflanzen, die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge nach der von Stutzer[3]) vorgeschlagenen Methode bestimmt und gleichzeitig auch Bestimmungen des Gesammt-

[1]) Die Ausfällung des Asparagins ist nur dann eine vollständige, wenn man nach dem Zusatz des salpetersauren Quecksilberoxyds zur Asparaginlösung die Acidität der Flüssigkeit durch Hinzufügen von etwas Natronlauge oder Sodalösung abstumpft (was im vorliegenden Falle nicht geschehen ist); ferner kann während der Verarbeitung der Quecksilberniederschläge ein Theil des Asparagins sich zersetzen. Uebrigens haben wir in den obigen Versuchen das Asparagin auch nicht bis auf den letzten Rest zum Auskrystallisiren zu bringen versucht; die Mutterlaugen, welche ohne Zweifel noch etwas Asparagin enthielten, wurden auf Xanthin-Körper verarbeitet.

[2]) A. o. a. O.

[3]) Journal für Landwirthschaft, Bd. 28, S. 103. Bei Ausführung dieser Methode werden die Extrakte durch Erhitzen mit Kupferoxydhydrat von den Eiweissstoffen befreit.

stickstoffs ausgeführt. Wir erhielten folgende, auf die Trockensubstanz der Pflanzen berechnete Resultate:[1])

A. Junger Rothklee:

	a) Unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet:	b) 8 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet:
Gesammtstickstoff	4,11 %	4,37 %
Stickstoff in Form von Proteinstoffen.	3,22 »	2,47 »
Differenz (Stickstoff in Form von Amiden etc.). . . .	0,89 »	1,90 »

[1]) **Analytische Belege.** Die Substanzen wurden in lufttrocknem Zustand abgewogen, die Zahlen auf Trockensubstanz umgerechnet.

A. Junger Rothklee:

a) unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet:

Gesammt-Stickstoff:

0,93869 gr. Trockensubstanz gaben 0,0377512 gr. N in Ammoniakform (= 9,6 cc. Barytlauge).

0,67122 gr. Trockensubstanz gaben 0,0282384 gr. N in Ammoniakform (= 7,2 cc. Barytlauge).

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,89160 gr. Trockensubstanz gaben 0,02863 gr. N in Ammoniakform (= 7,3 cc. Barytlauge).

0,89779 gr. Trockensubstanz gaben 0,0290228 gr. N in Ammoniakform (= 7,4 cc. Barytlauge).

b) 8 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet:

Gesammt-Stickstoff:

0,90087 gr. Trockensubstanz gaben 0,0394161 gr. N in Ammoniakform (= 10,05 cc. Barytlauge).

0,87769 gr. Trockensubstanz gaben 0,038435 gr. N in Ammoniakform (= 9,8 cc. Barytlauge).

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,88005 gr. Trockensubstanz gaben 0,0219632 gr. N in Ammoniakform (= 5,6 cc. Barytlauge).

0,87742 gr. Trockensubstanz gaben 0,0213749 gr. N in Ammoniakform (= 5,45 cc. Barytlauge).

B. Junger Hafer:

a) unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet:

Gesammt-Stickstoff:

0,76627 gr. Trockensubstanz gaben 0,03216 gr. N in Ammoniakform (= 8,2 cc. Barytlauge).

0,81924 gr. Trockensubstanz gaben 0,0329448 gr. N in Ammoniakform (= 8,4 cc. Barytlauge).

0,85049 gr. Trockensubstanz gaben 0,0354941 gr. N in Ammoniakform (= 9,05 cc. Barytlauge).

Die in Form von Amiden und anderen nicht proteinartigen Verbindungen vorhandene Stickstoffmenge war also, während der Klee in Wasser cultivirt wurde, fast auf 2 % (auf mehr als das Doppelte der ursprünglichen Quantität) gestiegen. Noch bedeutender war die Steigerung bei den Haferpflanzen, wie die folgenden Zahlen beweisen:

B. Junger Hafer:

	a) Unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet:	b) 6—7 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet:
Gesammtstickstoff	4,12 %	4,50 %
Stickstoff in Form von Proteinstoffen.	3,51 »	1,46 »
Differenz (Stickstoff in Form von Amiden etc.). . . .	0,61 »	3,04 »

In den 6—7 Tage lang in Wasser cultivirten Haferpflanzen fallen also nicht weniger als 3,04 % Stickstoff auf Amide und andere nicht proteinartige Verbindungen. Die Zahl ist so hoch, dass sie fast auffallend erscheinen kann;

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,93259 gr. Trockensubstanz gaben 0,0327487 gr. N in Ammoniakform (= 8,35 cc. Barytlauge).

0,93047 gr. Trockensubstanz gaben 0,0327487 gr. N in Ammoniakform (= 8,35 cc. Barytlauge).

b) 6—7 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet:

Gesammt-Stickstoff:

0,66542 gr. Trockensubstanz gaben 0,0301994 gr. N in Ammoniakform (= 7,7 cc. Barytlauge).

0,95502 gr. Trockensubstanz gaben 0,0423576 gr. N in Ammoniakform (= 10,8 cc. Barytlauge).

0,67572 gr. Trockensubstanz gaben 0,0305916 gr. N in Ammoniakform (= 7,8 cc. Barytlauge).

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,91173 gr. Trockensubstanz gaben 0,0133348 gr. N in Ammoniakform (= 3,4 cc. Barytlauge).

0,88327 gr. Trockensubstanz gaben 0,00129426 gr. N in Ammoniakform (= 3,3 cc. Barytlauge).

Die Haferpflanzen enthielten eine geringe Menge von Salpetersäure (0,385 % N^2O^5, berechnet auf die Pflanzentrockensubstanz).

Titer der Barytlauge: 1 cc. = 0,003922 gr. N.

aber auch die qualitative Untersuchung führte ja, wie aus dem früher Mitgetheilten zu ersehen ist, zu dem Schluss, dass grosse Quantitäten von Amiden vorhanden waren. Wir haben ferner, um über die Quantität des Asparagins und ähnlicher Amide Aufschluss zu gewinnen, eine Bestimmung nach der Sachsse'schen Methode ausgeführt. Wässerige, durch Behandlung mit Bleiessig gereinigte Extrakte wurden einige Stunden lang mit verdünnter Salzsäure gekocht, das dabei entstandene Ammoniak sodann durch Destillation mit Magnesia ausgetrieben und in titrirter Schwefelsäure aufgefangen. Unter der Annahme, dass dieses Ammoniak ausschliesslich durch Zersetzung von Asparagin entstanden ist, würde sich für die Trockensubstanz des in Wasser cultivirten Hafers ein Asparagin-Gehalt von 9,10 % berechnen, während für die Trockensubstanz des gleich nach der Entnahme vom Felde getrockneten Hafers in gleicher Weise nur ein Asparagin-Gehalt von 0,816 % gefunden wurde[1]). Diese Zahlen können aber zu hoch sein[2]).

Auf den von Borodin ausgesprochenen Anschauungen fussend, würde man anzunehmen haben, dass in den in Wasser cultivirten jungen Pflanzen Zerfall von Eiweissstoffen stattfand und dass die dabei entstehenden stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukte nicht zu Eiweiss regenerirt werden konnten, weil an den dazu nöthigen stickstofffreien Stoffen

---

[1]) Nach dem Ergebnisse dieser Bestimmung müssten also auch die frischen Haferpflanzen etwas Asparagin enthalten, obwohl wir bei Verarbeitung des Quecksilberniederschlags keine Asparaginkrystalle zu gewinnen vermochten. Der anscheinende Widerspruch dieser Beobachtungen kann darin seine Erklärung finden, dass die Gewinnung von Asparagin aus dem Quecksilberniederschlage misslang, weil es in zu geringer Quantität sich vorfand. Es ist aber auch möglich, dass das beim Erhitzen des Extrakts mit Salzsäure gebildete Ammoniak nicht aus Asparagin, sondern aus einem andern Amide (Glutamin?) abgespalten worden ist.

[2]) Sie bilden einen Ausdruck für die Menge von Asparagin und ähnlichen Amiden (Glutamin), welche in maximo vorhanden gewesen sein kann. Bei dem in Wasser cultivirten Hafer übersteigt die so gefundene Zahl die abscheidbare Asparaginmenge so sehr, dass man auf Vorhandensein anderer Amide neben Asparagin schliessen muss.

bald Mangel eintrat (denn die in der beschriebenen Weise behandelten Pflanzen konnten durch Assimilation keine stickstofffreien Stoffe bilden, weil das Licht abgeschlossen war, und erhielten auch keinen Zufluss solcher Stoffe aus den Wurzeltheilen). Unter diesen Umständen erfolgte Anhäufung von Asparagin und ähnlichen Produkten.

Wenn es Methoden gäbe, vermittelst deren man den Gehalt der grünen Pflanzen an den einzelnen stickstoffhaltigen Bestandtheilen mit Sicherheit bestimmen könnte, so müsste es lohnend sein, zur Ergänzung der oben mitgetheilten Zahlen sowohl in den frischen wie in den in der beschriebenen Weise in Wasser cultivirten Pflanzen solche Bestimmungen auszuführen. Leider lassen die für solche Zwecke verwendbaren Bestimmungsmethoden so viel zu wünschen übrig, dass mit Hülfe derselben zur Zeit nur Unvollkommenes geleistet werden kann; es erscheint daher zweckmässig, die Ausführung solcher Bestimmungen zu verschieben, bis die betreffenden Methoden weiter ausgebildet sind.

Die im Vorigen beschriebenen Untersuchungen gaben uns Gelegenheit, auch in Bezug auf das Vorkommen von Xanthin-Körpern[1]) in den Pflanzen einige Beobachtungen zu machen.

Bekanntlich hat G. Salomon[2]) vor mehreren Jahren gezeigt, dass Hypoxanthin und daneben wahrscheinlich auch Xanthin in Lupinenkeimlingen enthalten ist; von Reinke und Rodewald[3]) sind Hypoxanthin, Xanthin und Guanin im Protoplasma von Aethalium septicum, von Schützenberger in Hefe, welche der Selbstzersetzung überlassen war,

---

[1]) Es sei uns gestattet, unter dieser auch von G. Salomon (in den später citirten Abhandlungen) angewendeten Bezeichnung Hypoxanthin, Xanthin und Guanin zusammenzufassen.

[2]) Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft in Berlin, Jahrg. 1880/81, Nr. 2 und 3, S. 14. Eine Bestätigung der Angaben Salomon's lieferte der Eine von uns in einer unter Mitwirkung von J. Barbieri ausgeführten Arbeit (Journal für practische Chemie, n. F., Bd. 37, S. 358). Auch in Malzkeimen fand Salomon Xanthinkörper vor.

[3]) Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium in Göttingen, Bd. II, S. 147.

[illegible] worden. A. Baginsky[1]) hat Hypoxanthin und Xanthin im Thee nachgewiesen, der Eine von uns[2]) fand Hypoxanthin im Kartoffelsaft. Ferner [illegible] Arbeiten von A. Kossel[3]), welchen wir die [illegible] der Bildung jener stickstoffreichen Basen aus dem [illegible] verdanken, Beweise für die Verbreitung derselben [illegible] im Pflanzenorganismus.

Der Nachweis dieser Stoffe wird [illegible] in der Weise geführt, dass man sie in die in Ammoniak unlöslichen Silberverbindungen überführt und letztere in [illegible] Salpetersäure vom specifischen Gewicht [illegible] auflöst; beim Erkalten scheiden sich Hypoxanthin- und Guanin-Silbernitrat in feinen Krystallen aus, während die entsprechende Xanthinverbindung länger in Lösung bleibt[4]); auf Zusatz von Ammoniakflüssigkeit zu dieser Lösung fällt Xanthinsilber nieder. Das Hypoxanthin und das Guanin lassen [illegible] sich, nachdem sie aus den Silberverbindungen abgeschieden [illegible], durch Behandlung mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit trennen; Hypoxanthin ist darin löslich, Guanin nicht[5]).

Dass die in der beschriebenen Weise zur Abscheidung gebrachten Stoffe in manchen Fällen noch Beimengungen [illegible] [illegible], ist nicht unmöglich; denn es sind ja noch drei Körper mit ähnlichem Verhalten bekannt, nämlich das [illegible], das Paraxanthin[6]) und das Adenin[7]).

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 8, S. 395.

[2]) Landwirthschaftliche Versuchsstationen, Bd. 28, S. 111.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 152 und 167; Bd. 6, S. 422; Bd. 7, Bd. 8, S. 404.

[4]) Nach den darüber vorliegenden Angaben scheidet sich diese Xanthinverbindung aus der salpetersauren Lösung nur sehr langsam aus.

[5]) Man vergl. die Angaben von A. Kossel, diese Zeitschrift, Bd. 8, S. 704.

[6]) Entdeckt von G. Salomon (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 16, 2. Heft, sowie Zeitschrift für klinische Medicin, [illegible]

[7]) [illegible] von A. Kossel (Berichte der deutschen chemischen [illegible] 18, S. 79).

Bei Aufsuchung der Xanthinkörper in den Pflanzen verfuhren wir bisher nach dem Vorgange von G. Salomon u. A. in der Regel in der Weise, dass wir die wässerigen Extrakte eindunsteten, den Rückstand wiederholt mit Weingeist auskochten und die so gewonnenen Auszüge nach dem Verjagen des Weingeists mit ammoniakalischer Silberlösung versetzten. Direkte Ausfällung der genannten Stoffe aus wässerigen Pflanzenextrakten oder Pflanzensäften durch ammoniakalische Silberlösung ist in der Regel wohl nicht thunlich, weil solche Flüssigkeiten meist Stoffe enthalten, durch welche die Silberlösung rasch reducirt wird; [1]) auch können Substanzen vorhanden sein, welche die Ausfällung der Xanthinkörper hindern.

Da Hypoxanthin, Xanthin und Guanin durch salpetersaures Quecksilberoxyd fällbar sind, so war zu vermuthen, dass sich solche Körper in den Flüssigkeiten vorfinden würden, welche bei Verarbeitung der durch salpetersaures Quecksilberoxyd in den Pflanzenextrakten hervorgebrachten Niederschläge erhalten werden. Einige Versuche zeigten, dass dies in der That der Fall ist; jene Flüssigkeiten gaben fast ausnahmslos Niederschläge mit ammoniakalischer Silberlösung. Als diese Niederschläge in heisser verdünnter Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 (unter Zusatz von etwas Harnstoff) gelöst, die Lösungen der Ruhe überlassen wurden, erfolgten stets schon während des Erkaltens krystallinische Ausscheidungen, welche nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen als aus Hypoxanthin- und Guanin-Silbernitrat bestehend angesehen werden müssen. Die von diesen Ausscheidungen abfiltrirten Flüssigkeiten gaben auf Zusatz von Ammoniak meistens nur geringe Fällungen; es scheint demnach, dass Xanthin nur in sehr unbedeutender Menge sich vorfand und vielleicht sogar in einigen Fällen ganz fehlte. Dass dieser Körper in den von uns untersuchten Objekten gar nicht vorhanden gewesen sei, ist im Hinblick auf die Resultate früherer Untersuchungen unwahrscheinlich; das Wahrscheinlichste ist wohl, dass er in die Bleiessig-Niederschläge eingegangen ist, welche

---

[1]) Wie schon von G. Salomon beobachtet worden ist (a. o. a. O.).

vor dem Zusatz des salpetersauren Quecksilberoxyds durch Filtration entfernt wurden. [1])

Wir haben die genannten stickstoffreichen Basen auf diesem Wege nachgewiesen in jungen Kartoffelknollen, in Zuckerrüben, in den in früher beschriebener Weise zur Entwickelung gebrachten Sprossen des Ahorns und der Platane, in der Rinde von Platanenzweigen, in Lupinen- und Kürbiskeimlingen, endlich in jungem Gras, jungem Rothklee, jungen Hafer- und jungen Wicken-Pflanzen. Dass jene Stoffe zum Theil in den untersuchten Objekten nicht präformirt waren, sondern erst während der Darstellung der Extrakte sich gebildet hatten, muss als möglich bezeichnet werden; denn nach den Untersuchungen Kossel's kann ja schon beim Erhitzen mit Wasser partielle Zersetzung der Nucleine stattfinden.

Im Allgemeinen beschränkten wir uns darauf, vermittelst der oben angegebenen Reaktionen nachzuweisen, dass überhaupt Xanthinkörper vorhanden waren; in einigen Fällen haben wir aber die aus der salpetersauren Lösung aus-

---

1) Wir haben in 3 Fällen die bei Zerlegung des Bleiessig-Niederschlags mittelst Schwefelwasserstoff erhaltene Flüssigkeit auf Xanthinkörper geprüft und in 2 Fällen auch Niederschläge durch ammoniakalisches Silbernitrat erhalten; dieselben liessen sich aber nicht gut weiter verarbeiten, weil sehr rasch Reduktion der Silberlösung eintrat.

Ueber das Verhalten der Xanthinkörper zu Bleiessig ist Folgendes zu bemerken: Entgegen früheren Angaben fand A. Kossel (diese Zeitschrift, Bd. 6, S. 426), dass Hypoxanthin nicht durch Bleiessig fällbar ist; die gleiche Angabe findet sich auch in Hoppe-Seyler's Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S. 545. G. Salomon (Virchow's Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, Bd. 95, S. 531) bestätigte dies und fand, dass auch Guanin nur bei Zusatz von Ammoniak durch Bleisalze gefällt wird (da aber Guanin im Wasser unlöslich ist, so muss wohl auch die Natur der Säure, durch welche Guanin in Lösung gehalten wird, das Resultat der Bleifällung beeinflussen). Reinke und Rodewald (Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium in Göttingen, S. 47) erhielten Guanin und Xanthin aus den Bleiessig-Niederschlägen, welche in den mit Wasser resp. mit sehr verdünnter Ammoniakflüssigkeit dargestellten Extrakten aus dem Protoplasma von Aethalium septicum gewonnen wurden. Paraxanthin wird nach G. Salomon nicht durch Bleiessig gefällt (man vergl. die oben citirten Abhandlungen).

krystallisirten Doppelsalze näher untersucht, so z. B. diejenigen, welche aus jungem Gras, Rothklee und Hafer erhalten wurden; wir vereinigten dieselben, um ein etwas grösseres Quantum in Arbeit nehmen zu können, und krystallisirten sie einmal aus Salpetersäure um; dann zerlegten wir sie unter Zusatz von etwas Salzsäure durch Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelsilber abfiltrirte Lösung wurde mit Ammoniak neutralisirt und sodann im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit behandelt. Der dabei ungelöst bleibende Theil der Substanz, welcher das etwa vorhandene Guanin enthalten musste, löste sich in verdünnter Salzsäure; aus der durch Eindampfen stark concentrirten Lösung krystallisirte ein Salz aus, welches im Aussehen dem salzsauren Guanin glich. Die Lösung dieses Salzes gab auf Zusatz von Pikrinsäure-Solution nach einiger Zeit eine krystallinische Ausscheidung, welche vollständig das Aussehen des von Capranica[1]) beschriebenen Guanin-Pikrats besass. Das Vorhandensein von Guanin ist demnach als nachgewiesen zu betrachten. Der in Ammoniakflüssigkeit lösliche Theil der oben beschriebenen Substanz wurde vermittelst ammoniakalischer Silberlösung wieder in die Silberverbindung übergeführt, letztere wieder in Salpetersäure gelöst. Das beim Erkalten aus dieser Lösung sich ausscheidende Doppelsalz hatte das Aussehen des Hypoxanthin-Silbernitrats.

Das Vorhandensein von Guanin liess sich auch nachweisen in getrockneten jungen Wickenpflanzen, von denen wir einige Kilogramm mit heissem Wasser extrahirten. Aus den Flüssigkeiten, welche bei Verarbeitung der durch salpetersaures Quecksilberoxyd in den Extrakten hervorgebrachten Niederschläge erhalten wurden, schied sich neben Asparagin und einem später noch zu erwähnenden Körper eine bräunlich gefärbte Substanz aus, welche durch heisses Wasser nicht wieder in Lösung gebracht werden konnte. Sie löste sich aber in warmer verdünnter Salzsäure; die Lösung lieferte beim Eindunsten ein krystallinisches, im Aussehen dem salzsauren Guanin gleichendes Salz. Die wässerige (unter Zusatz

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 4, S. 233.

von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure hergestellte) Lösung dieses Salzes gab mit Pikrinsäure sehr schön die Capranica'sche Guanin-Reaktion. Durch Ammoniakflüssigkeit wurde die Lösung gefällt, ebenfalls durch ammoniakalische Silberlösung. Die durch letzteres Reagens hervorgebrachte Fällung löste sich in heisser verdünnter Salpetersäure; die Lösung lieferte beim Erkalten eine weisse krystallinische Ausscheidung. Dass die beschriebene Substanz Guanin war, dürfte wohl keinem Zweifel unterliegen. Aus der salzsauren Lösung, durch Ammoniak gefällt, bildete das Guanin eine dem unbewaffneten Auge amorph erscheinende, nur schwach gefärbte Masse, welche sich nicht in Wasser und Ammoniakflüssigkeit, leicht in warmer Salzsäure auflöste. Eine Probe derselben gab beim Eindampfen mit concentrirter Salpetersäure einen gelben Rückstand, welcher durch Kalilauge roth gefärbt wurde.

Als die Wickenpflanzen wiederholt mit heissem Wasser extrahirt wurden, zeigte sich, dass auch die spätern Extrakte, in der oben angegebenen Weise verarbeitet, noch Guanin lieferten (dem Anschein nach mindestens eben so viel, als die zuerst gewonnenen Auszüge). Es scheint demnach, dass das Guanin erst allmälig in Lösung ging oder erst allmälig durch Zersetzung anderer Stoffe sich bildete.[1])

---

[1]) Es sei hier darauf aufmerksam gemacht, dass die Gegenwart von Xanthinkörpern in den wässerigen Extrakten und die allmälige Bildung dieser Körper aus den Nucleinen Schwierigkeiten bei Ausführung der Bestimmungen verursachen können, durch welche man sich über die Vertheilung des Stickstoffs auf die verschiedenen Stoffgruppen Aufschluss zu verschaffen sucht; wenn man z. B. nach der früher erwähnten Stutzer-schen Methode die wässerigen Extrakte aus Pflanzen mit Kupferoxydhydrat kocht, um Eiweissstoffe niederzuschlagen, so fallen vielleicht auch Xanthinkörper nieder; wenigstens erhielten wir beim Kochen reiner wässeriger Lösungen von Hypoxanthin und von salzsaurem Guanin mit Kupferoxydhydrat stickstoffhaltige Niederschläge. Sodann aber wird die allmälige Bildung von Xanthinkörpern aus den Nucleinen vermuthlich die Wirkung haben, dass man bei Extraktion von Pflanzenstoffen mit heissem Wasser erst nach sehr oft wiederholtem Auskochen an einen Punkt kommt, an welchem keine stickstoffhaltigen Stoffe mehr in Lösung gehen.

Die von der oben erwähnten, aus Asparagin, Guanin etc. bestehenden Ausscheidung abfiltrirte Mutterlauge gab mit ammoniakalischer Silberlösung einen starken Niederschlag. Aus der Auflösung desselben in heisser verdünnter Salpetersäure (hergestellt unter Zusatz von etwas Harnstoff) schieden sich beim Erkalten feine Krystalle aus. Bei der Zerlegung in der früher beschriebenen Weise (mittelst Schwefelwasserstoff u. s. w.) lieferten dieselben noch etwas Guanin, der grösste Theil bestand sehr wahrscheinlich aus Hypoxanthin-Silbernitrat.

Die im Vorigen gemachten Mittheilungen liefern eine neue Stütze der auf Grund der frühern Untersuchungen von A. Kossel ausgesprochenen Annahme, dass Hypoxanthin, Xanthin und Guanin entweder präformirt oder in gebundenem Zustande (in den Nucleinen) sowohl im thierischen Organismus wie im Pflanzenkörper in grösster Verbreitung vorkommen.[1]) Ferner aber dürfte aus unsern Mittheilungen zu entnehmen sein, dass bei Aufsuchung jener stickstoffreichen Basen in den Pflanzen die Ausfällung derselben durch salpetersaures Quecksilberoxyd unter Umständen mit Vortheil verwendet werden kann.

Dass aber überhaupt bei einer Prüfung der Pflanzen auf stickstoffhaltige Stoffwechselprodukte die Untersuchung der Niederschläge, welche durch salpetersaures Quecksilberoxyd in den zuvor durch Behandlung mit einer Bleisalzlösung gereinigten wässerigen Extrakten hervorgebracht werden, sehr gute Dienste leisten kann, darf behauptet werden; denn in diesen Niederschlägen finden sich ja nicht nur Asparagin und Glutamin, sondern auch Allantoin, Hypoxanthin und Guanin vor. Auch

---

[1]) Wie aus den oben im Text gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, sind es eigentlich nur beiläufige Beobachtungen, welche wir über das Auftreten der Xanthinkörper in den Pflanzen gemacht haben. Wäre die Darstellung dieser Stoffe ein Hauptzweck unserer Untersuchungen gewesen, so würden wir selbstverständlich die von Kossel gemachten Beobachtungen verwerthet und die Pflanzen nicht mit Wasser, sondern mit einer verdünnten Säure extrahirt haben.

Tyrosin kann partiell in dieselben eingehen (wir haben z. B. bei Untersuchung der Extrakte aus Kürbiskeimlingen in den Quecksilberniederschlägen Tyrosin vorgefunden)[1].

Dass man aber vermittelst des genannten Fällungsmittels auch noch neue, bisher nicht bekannte Pflanzenbestandtheile zur Abscheidung bringen kann, können wir jetzt schon als sicher bezeichnen. Aus den Quecksilberniederschlägen, welche in den wässerigen Extrakten aus jungen Wicken- und Rothkleepflanzen erhalten wurden, gewannen wir einen stickstoffreichen Körper, welcher Anfangs sich aus den Lösungen in amorphem Zustand ausschied, nach dem Wiederauflösen in Wasser aber krystallinische Form annahm. In reinem Zustande bildet er feine seidenglänzende Nadeln, welche sich sehr schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser lösen. Die wässerige Lösung (welche neutral reagirt) wird nicht gefällt durch Bleiessig und Kupferacetat, dagegen durch salpetersaures Quecksilberoxyd, Phosphorwolframsäure und Silbernitrat. Der Silberniederschlag löst sich, freilich nicht ganz leicht, in Ammoniakflüssigkeit.

Das Interessanteste an diesem Körper aber ist, dass er beim Erhitzen mit Salzsäure ein Spaltungsprodukt liefert, welches nach seinen Eigenschaften für Guanin erklärt werden muss. Es ist demnach auch nicht unwahrscheinlich, dass ein Theil des Guanins, welches wir in den wässerigen Extrakten aus den genannten Pflanzen vorgefunden haben, während der Darstellung und während der Verarbeitung der Extrakte aus jenem Körper sich gebildet hat.

Ueber diesen neuen Pflanzenbestandtheil hoffen wir bald ausführliche Mittheilungen machen zu können.

---

[1]) Die Filtration und das Auswaschen der Quecksilberniederschläge hat in den zahlreichen von uns ausgeführten Versuchen uns niemals Schwierigkeiten bereitet. Die Flüssigkeiten, welche bei Zerlegung der in Wasser suspendirten Niederschläge durch Schwefelwasserstoff erhalten wurden, waren nach dem Abfiltriren des Schwefelquecksilbers farblos oder doch nur sehr wenig gefärbt. Bei der Neutralisation und beim Eindampfen färbten sie sich nach und nach, aber doch nur selten so stark, dass daraus Schwierigkeiten für die Untersuchung der aus jenen Flüssigkeiten erhaltenen Ausscheidungen entstanden.

Beitrag zur Kenntniss der Eiweisskörper der Kuhmilch[1]).

Von

John Sebelien.

Assistent am landwirthschaftlichen Versuchslaboratorium zu Kopenhagen.

(Der Redaktion zugegangen am 16. März 1885.)

Während unsere Kenntniss vom Casein in mancher Beziehung ganz befriedigend ist, haben wir nur sehr mangelhafte Nachrichten von den anderen Eiweissbestandtheilen der Milch. Die mangelhaften Methoden zu deren Darstellung und Trennung, sowie die unvollständige Kenntniss von ihren Eigenschaften haben oft dazu geführt, eine Menge neue Stoffe als selbstständige, native Milchbestandtheile aufzustellen, während sie thatsächlich entweder nur unvollständig ausgefällte Reste von Casein und Albumin sind, so wie Hammarsten[2]) es für das «Lactoprotein» bewiesen hat, oder auch Umwandlungsprodukte sind, gebildet durch Einwirkung der chemischen Reagentien oder dergleichen, so wie es z. B. der Fall ist mit den von Danilewsky & Radenhausen[3]) als «Caseoalbumin- und Caseoprotalbinstoffe» aufgeführten Körper. In der letzten Zeit ist von Duclaux[4]) die entgegengesetzte Ansicht ausgesprochen, indem er die Existenz aller anderen Eiweisskörper in der Milch als das Casein läugnet. Vom Casein aber nimmt er drei Modifikationen an: eine feste, eine aufgequollene und eine gelöste Modification, die sich

---

1) Nach dem dänischen Original im «Oversigt af det kgl. danske Vidensk. Selskabs Forhandlinger 1885».

2) Nordisk medicinsk Arkiv 1876, Bd. VIII, Nr. 10.

3) Forschungen auf dem Gebiete der Viehhaltung, H. 9, 1880. — Auch Hammarsten in Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII.

4) Comptes rendus, T. XCVIII, 1884.

von einander mittelst Filtriren durch Filtrirpapier, bezw. Thonzellen trennen lassen, aber die übrigens leicht in einander übergeführt werden können.

Aus dem Nachfolgenden wird hervorgehen, dass in der Milch wenigstens zwei, von dem Casein verschiedene Eiweisskörper zugegen sind, wenn auch der eine von diesen nur in äusserst geringer Menge.

Laktoglobulin.

Hammarsten[1]) sprach die Vermuthung aus, dass die Milch ein durch Magnesiumsulfat fällbares Globulin enthält, welches mit dem genannten Salze ausgefällt werden kann, nachdem man zuerst alles Casein mittelst Kochsalz entfernt hat. Früher hat Engling[2]) angegeben, dass die verdünnten Molken aus dem Colostrum der Gebirgsschläge, nach längerem Einleiten von Kohlensäure weisse Flocken ausscheiden, welche sich in 5procentiger Kochsalzlösung wieder lösen, und die er daher als Globulin betrachtet. Da die Frage jedoch nach diesen ziemlich unzureichenden Angaben nicht als abgemacht zu betrachten ist, habe ich sie nach Aufforderung von Herrn Prof. Hammarsten zur näheren Untersuchung aufgenommen.

Zur Entfernung des Caseins habe ich ausser Sättigung der Milch mit Kochsalz in Substanz auch die Coagulation mittelst Lab benutzt. In beiden Fällen ist es leicht, die Gegenwart eines Globulins nachzuweisen; jedoch muss man beobachten, dass wenn man eine Verkäsung der Milch mittelst Lab vornimmt, in den Molken ausser dem Lactalbumin und dem Molkenprotein immer ein kleiner Rest von unausgefälltem Casein (oder Käsemasse) bleibt, welchen man zu beseitigen hat, um nicht die Reactionen zu stören.

Als Regel wird man sich zur Fällung mit Kochsalz halten. Wenn die Milch sauer reagirt, wird sie mit Natronlauge genau neutralisirt (bis amphotere Reaction), worauf man gewöhnliches pulverisirtes Tischsalz unter Umrühren bis zur vollständigen Sättigung in die Milch hineinbringt. Wenn

---

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie 1883, Bd. VII, S. 250.

[2]) Forschungen auf dem Gebiete d. Viehhaltung, I Bd., 2. H., S. 96.

dieser Punkt erreicht ist, filtrirt man. Da das Casein als vollständig fällbar für Kochsalz anzusehen ist, während das Globulin nur unvollständig hiervon gefällt wird, wird die letztere Substanz in dem erhaltenen Filtrate nachzuweisen sein. Beim Erwärmen der Flüssigkeit erhält man constant bei 35° C. eine flockige Fällung, die nebst einem eiweissartigen Körper, dessen Natur ich nicht zu bestimmen im Stande bin (wahrscheinlich ein kleiner Rest von Casein), hauptsächlich aus phosphorsaurem Kalk besteht. Nach dem Abfiltriren dieser Fällung sättigt man das klare Filtrat mit pulverisirtem Magnesiumsulfat, wobei man wieder eine deutliche flockige Fällung erhält. Nur ein einziges Mal erhielt ich hier keine Fällung; jedoch ist die Ursache hiervon wahrscheinlich in dem Umstande zu suchen, dass die bei diesem Versuche benutzte abgerahmte Milch etwas sauer reagirte, und die vorherige Neutralisation nicht vorgenommen wurde.

Um den in genannter Weise ausgeschiedenen Körper näher zu untersuchen, wurde er zuerst einem Reinigungsprocess unterworfen. In dieser Absicht wurde er auf einem Filter gesammelt, durch Pressen zwischen Filtrirpapier von der Mutterlauge befreit, darauf nebst dem Filter in wenig Wasser aufgeweicht und die filtrirte Lösung abermals mit Magnesiumsulfat gesättigt. Nach einer solchen Reinigung wird man den Körper «rein» finden, d. h. frei von übrigen Eiweisskörpern (Lactalbumin); wird nämlich die Lösung des 2mal gefällten Körpers abermals mit Magnesiumsulfat gesättigt, so lässt sich im Filtrate mittelst den gewöhnlichen Reagentien kein Eiweisskörper mehr nachweisen.

Um von den anhaftenden Resten von Magnesiumsulfat befreit zu werden, wurde der 2mal gefällte Körper in möglichst geringer Quantität Wasser gelöst und darauf der Dialyse unterworfen. Hierdurch wurde die Lösung mehr oder weniger trübe, klärte sich aber wieder vollständig bei Zusatz von etwas Kochsalzlösung.

Merkwürdig genug liess sich bei der Dialyse fast nie eine veritable Ausscheidung von Globulin erhalten, sondern nur eine starke Trübung der Flüssigkeit. Auch nicht durch

sehr vorsichtigen Zusatz von äusserst schwacher Essigsäure glückte es, einen deutlichen Niederschlag zu bilden. Da nun sowohl die Dialyse, wie die verdünnte Essigsäure sehr unvollkommene Fällungsmittel für das Globulin sind, so lässt sich das Ausbleiben der Niederschläge wohl in dieser Weise erklären. Geht man jedoch einen ähnlichen Umweg wie den von Hammarsten[1]), gelegentlich der Untersuchung vom Paraglobulin eingeschlagenen, so gelingt es leicht, die genannten Erscheinungen hervorzurufen.

Man sättigt zu diesem Zwecke die Lösung des mit Magnesiumsulfat 1 oder 2mal gefällten Körpers mit Kochsalz in Substanz, wodurch eine unvollständige Fällung des Globulins entsteht. Wird diese Fällung gesammelt und zwischen Filtrirpapier gepresst, darauf in Wasser gelöst und dialysirt, so scheidet das Globulin sich bei der Dialyse in deutlichen faserigen Flocken aus, die sich durch Eintropfen von etwas Kochsalzlösung wieder vollständig klar lösen. Diese klare Lösung wird jedoch durch grössere Mengen Wassers wieder getrübt und die Trübung wird durch eine Spur von Essigsäure vergrössert. Eine Lösung des in beschriebener Weise dargestellten Globulins wurde mit Kochsalz gesättigt, wonach das Filtrat von der hierdurch ausgeschiedenen Fällung noch mehr Fällung durch Sättigung mit Magnesiumsulfat ergab.

In dem genannten Verhalten zeigt sich eine schlagende Analogie des Lactoglobulins mit dem im Blute vorkommenden Paraglobulin.

Um die Eigenschaften des besprochenen Körpers näher zu untersuchen, habe ich seine Coagulationstemperatur in einer Lösung von 5—10% Kochsalz bestimmt. Es ergab sich hierbei immer eine starke Trübung bei ca. 72° C., die Flüssigkeit wurde vollständig milchweiss und undurchsichtig, aber die Coagulation trat erst bei 75—76° C. ein. Das Eintreten der Coagulation erkennt man deutlich daran, dass der Niederschlag sich bald und leicht sammelt, wogegen die Flüssigkeit ihr vollständig milchiges Aussehen selbst bei längerem Stehen behält, wenn man das Aufwärmen unterbricht, ehe die Coagu-

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VIII, S. 467.

lationstemperatur erreicht ist. Ich habe diese Versuche mehrere Male mit Präparaten verschiedener Darstellung wiederholt, aber immer die Coagulationstemperatur innerhalb des angegebenen Intervalls gefunden.

Auch das in oben beschriebener Weise mittelst Kochsalz unvollständig gefällte Globulin zeigte in 10% kochsalzhaltiger Lösung bei 72° C. starke Trübung und bei 74° C. schied der Körper sich aus in coagulirtem Zustande.

Die gefundene Coagulationstemperatur stimmt durchaus mit den von Hammarsten[1]) bezüglich des Paraglobulins gefundenen Resultaten. Um die Identität zwischen diesen Körper und dem Lactoglobulin zu beweisen, wäre jedoch die Untersuchung von noch anderen Eigenschaften erforderlich, namentlich von dem optischen Drehungsvermögen, das für das Paraglobulin sowohl von Hammarsten, wie von Frédéricq zu ca. ÷47° bestimmt ist. Indessen ist es mir noch nicht gelungen, von dem Lactoglobulin (wovon man in beschriebener Weise nur wenige Milligramme per Liter Milch gewinnt) solchen Versuch anzustellen. Aus demselben Grunde konnte natürlich auch keine Rede davon sein, eine Elementar-Analyse dieses Globulins vorzunehmen.

Betreffend die Menge des Lactoglobulins in der Milch ist es natürlich bis jetzt nicht möglich gewesen, eine quantitative Bestimmung davon vorzunehmen. Da ein Theil des Globulins mitgefällt wird, wenn man das Casein mit Kochsalz niederschlägt, so wird die Quantität, die im Filtrate hiervon mit Magnesiumsulfat gefällt werden kann, nur eine niedere Grenze der ganzen Menge sein können. Aber selbst für die Quantität, die man nach der beschriebenen Methode gewinnen kann, sehe ich mich nicht im Stande, genaue Zahlen anzugeben; doch scheint sie etwas wachsend zu sein, und namentlich etwas grösser im Colostrum zu sein.

Es bleibt noch übrig zu untersuchen, in wiefern der hier als Lactoglobulin bezeichnete Körper möglicherweise ein unausgefällter Rest unreinen Caseins sein kann. Bekanntlich

---

[1]) Pflüger's Archiv für Physiologie, Bd. XVIII, S. 64.

hat ja nämlich Hammarsten[1]) früher nachgewiesen, dass Casein, wenn es mit gewissen Blutserumbestandtheilen (Lecithin?) verunreinigt wird, mehrere Eigenschaften der Globuline annimmt. Mit Hinblick auf den Zusammenhang, den man gewöhnlich zwischen dem Blute und der Milch annimmt, und die Identität, die man gewöhnlich zwischen dem Albumin des Bluts und der Milch annimmt (cfr. unten), liegt die Annahme nahe, dass wahrscheinlich auch in der Milch solche Blutserumbestandtheile vorkommen, welche einen Theil des Caseins in solcher Weise verunreinigen können, dass es sich mit den Eigenschaften der Globuline zeigt. Ein solcher Einwand wird um so mehr natürlich, wenn man sich erinnert, dass die Milch nach Schmidt-Mülheim[2]) wirklich eine nachweisbare Spur von Lecithin enthält, und dass dieser Körper höchstwahrscheinlich die wirksame Rolle bei der genannten Verunreinigung des Caseins spielt.

Indessen muss man erinnern, dass ein in genannter Weise verunreinigtes und verändertes Casein nach einer einzigen Reinigung wieder seine ursprünglichen Eigenschaften annimmt, und es ist daher sehr wenig wahrscheinlich, dass unser Lactoglobulin, welches wiederholten Reinigungsprocessen unterworfen gewesen, noch so viel Unreinigkeit enthalten sollte, dass dies einen wesentlichen Einfluss haben konnte.

Die Aehnlichkeit des unreinen Caseins und der Globuline tritt besonders in den Löslichkeitsverhältnissen hervor; auch in anderer Beziehung verliert das Casein einige seiner wichtigsten Eigenschaften, so z. B. seine Fähigkeit mittelst Lab zu gerinnen. Dagegen ist, meines Wissens, nichts darüber bekannt, wie eine kochsalzhaltige Caseinlösung unter solchen Umständen sich in der Wärme verhält. Ich untersuchte desshalb ob es möglich wäre, eine Caseinlösung beim Erhitzen zu coaguliren in solcher Weise und unter solchen Umständen wie es bei dem als Lactoglobulin betrachteten Körper erwähnt wurde.

---

[1]) Untersuchungen über die Faserstoffgerinnung. Nov. acta reg. soc. sc. Ups. ser. III. vol. X.

[2]) Pflüger's Archiv, Bd. XXX, S. 379.

In dieser Absicht wurde reines Casein (nach Hammarsten's Methode durch 3mal wiederholtes Fällen mit Essigsäure dargestellt) mittelst wenig Alkali in Wasser zur amphoteren Reaction gelöst und darauf mit soviel Kochsalzlösung gemischt, dass die Lösung 5—10 % Chlornatrium enthielt.

Bei einem Gehalte von 5% Salz hielt die Lösung sich vollständig klar beim Erwärmen bis 100° C. und vertrug das Kochen ohne eine Spur von Coagulation zu zeigen.

Bei einem Gehalte von 10% Kochsalz fing die Flüssigkeit bei 75° C. an zu opalisiren, wurde sehr stark milchig bei ca. 82°, aber liess sich übrigens bis 100° erwärmen, ohne dass eine Coagulation eintrat. Ganz im Gegentheil klärte die Flüssigkeit sich vollständig, wenn sie aus dem Wasserbade herausgenommen und abgekühlt wurde. Bei wiederholtem Erwärmen trat wieder eine starke Trübung ein, die vollständig aussah wie eine Coagulation, welche von der Oberfläche der Flüssigkeit anfangend, sich nach und nach weiter nach unten verbreitete. In dieser Weise konnte man mehrere Male, scheinbar ohne Schaden, die Lösung abwechselnd trüben und klären, aber eine Coagulation trat nie ein. Dagegen wurde bei diesem Versuche beobachtet, dass während der Abkühlung und Klärung der Lösung eine Menge schwere, durchsichtige, stärkekornähnliche Körper durch die Flüssigkeit schnell zum Boden fielen, um doch bei vollständiger Abkühlung wieder zu verschwinden.

Zur Controle wurde geprüft, ob eine Lösung von unreinem Casein sich in derselben Weise verhielt. Hierzu wurde ein Casein angewendet, welches dargestellt war durch Mischung einer reinen Caseinlösung mit Blutserum, welche durch Verdünnen mit 9 Vol. Wasser und etwas Essigsäure so gut wie frei von Paraglobulin war. Das beim Mischen gefällte sehr unreine Casein wurde mehrere Male durch Decantation gewaschen, darauf mittelst wenig Alkali in Wasser gelöst und dann zu den Coagulationsversuchen verwendet. Da das benutzte Serum der angegebenen Darstellungsweise gemäss noch etwas Paraglobulin enthielt (indem dies nur

unvollständig mittelst Magnesiumsulfat gefällt wird), so war es ja denkbar, dass auch das gefällte Casein noch eine Spur von Globulin enthalten konnte, und ein positives Resultat der Coagulationsversuche würde also kein Beweis sein, dass das Casein unter solchen Umständen wirklich zu coaguliren im Stande sei.

Indessen zeigte es sich, dass beim Erwärmen einer solchen Lösung, die theils 5%, theils 10% Kochsalz enthielt, schon bei verhältnissmässig niedriger Temperatur (40—50°C.) ein trübes Aussehen eintrat. Die 10% Kochsalz haltige Lösung wurde bei 65° C. stark milchig, aber übrigens liessen beide Lösungen sich zum Kochen erhitzen, ohne zu coaguliren. Beim Abkühlen klärten sich die Flüssigkeiten augenscheinlich mit Ausnahme des genannten trüben Aussehens, welches von einer ähnlichen körnigen Fällung herrührte, wie bei den Versuchen mit reinem Casein, aber es verschwand nicht wieder wie dort bei weiterem Abkühlen.

Dieses Verhalten bietet nichts Merkwürdiges, wenn man beachtet, dass sowohl das angewendete Kochsalz, wie namentlich das unreine Casein Kalk (und Phosphorsäure) enthielten. Beim Erhitzen einer Caseinlösung, welche Calciumphosphat enthält, wird bei einer gewissen Temperatur (die um so niedriger liegt, je mehr von dem Phospate gegenwärtig ist) immer eine Trübung eintreten, bisweilen (bei hinreichender Menge von Calciumphosphat) sogar eine Fällung von Caseinkalkphosphat (Hammarsten), welche sich nicht immer wieder beim Abkühlen löst.

In wiefern das in der Milch vorkommende Globulin ein besonderes Lactoglobulin ist, oder ob es identisch mit dem Paraglobulin ist, lässt sich noch nicht entscheiden. Nur so viel ist gewiss, dass es in den untersuchten Eigenschaften vollständig mit dem Paraglobulin übereinstimmt. Um aber diese Frage zu entscheiden, würde es nothwendig sein, auch andere Eigenschaften zu untersuchen, namentlich das optische Drehungsvermögen, sowie auch die elementare Zusammensetzung, welches mir bis jetzt wegen des geringen Materials jedoch nicht möglich gewesen ist.

Lactalbumin.

Ueber das Albumin der Milch finden wir nur sehr sparsame und lückenhafte Mittheilungen in der Litteratur. Soweit mir bekannt, beschränkt sich unser Wissen von diesem Körper darauf, dass sich in den Molken, nachdem das Casein aus der Milch (durch Essigsäure, Lab oder andere Mittel) ausgefällt ist, ein durch Erhitzen zum Kochen coagulirbarer Eiweisskörper befindet. Dieser Körper, der sich durch seine Fällungsweise den eigentlichen Albuminen angesellt, betrachtet man gewöhnlich mit dem im Blute vorkommenden Serumalbumin als identisch[1]).

In seiner früher besprochenen Arbeit gibt Engling[2]) an, dass das Lactalbumin, sowohl der normalen Milch, wie des Colostrums, mit dem Serumalbumin identisch sei, und sich vom Ovalbumin der Eier durch seinen geringeren Schwefelgehalt unterscheidet. Doch finden sich keine genaueren Angaben weder über Darstellungsweise, noch über Analyse der Substanz angeführt. In einer späteren Abhandlung von demselben[3]) finden wir Elementaranalysen von Albumin, welches theils aus sauren, theils aus süssen Molken durch Hitze coagulirt ist, woraus der Verfasser den Schluss zieht, dass ein beträchtlicher Unterschied zwischen dem Lactalbumin des Colostrums und der normalen Milch, bezüglich der elementaren Zusammensetzung besteht.

Menozzi und Musso[4]) analysirten ebenfalls durch Hitze gewonnenes Eiweiss, welches aus sauren Molken coagulirt war, und schlossen aus ihren analytischen Durchschnittsresultaten auf eine Identität des Lactalbumins und des Serumalbumins.

Sämmtliche besprochenen Präparate stellten aber kaum reines Lactalbumin dar; denn theils wird man durch directe Coagulation der Molken (es seien diese auf die eine oder andere Weise erhalten) die ungefällten Reste von Casein oder

---

[1]) Hermann's Handbuch der Physiologie, V. Bd., 1. Th., S. 553.

[2]) Forschungen auf dem Gebiete der Viehhaltung, I. Bd., 2. H.

[3]) Jahresbericht über die Thätigkeit der landwirthschaftl.-chem. Versuchsstation des Landes Vorarlberg in Tisis, 1882.

[4]) Forschungen auf dem Gebiete der Viehhaltung, I. Bd., 3. H.

Käse im Coagulum mitbekommen, theils wird ein solches Coagulum sich nur schwierig von Milchzucker und namentlich von Fett befreien lassen, theils ist es ganz wahrscheinlich, wenn auch noch nicht bewiesen, dass das coagulirte Albumin ein vom nicht coagulirten Albumin auch bezüglich der elementaren Zusammensetzung wesentlich verschiedener Körper ist.

So lange man also das Lactalbumin nicht anders als im coagulirten Zustande erhalten kann, ist es nicht für nähere Untersuchung verwendbar. Es musste desshalb in löslicher Form rein dargestellt werden, oder jedenfalls so isolirt werden, dass seine Eigenschaften studirt werden konnten. Für diesen Zweck benutzte ich eine von Hammarsten[1]) für Darstellung des Serumalbumins angedeutete Methode. Er fand nämlich, dass, nachdem alles Paraglobulin aus dem Blutserum durch Sättigung mit Magnesiumsulfat bei 30° C. entfernt war, das Serumalbumin sich aus dem mit Salz gesättigten Filtrate bei gewöhnlicher Temperatur mittelst Essigsäure fällen liess, wonach es durch Lösen in Wasser, Neutralisiren und darauffolgende Dialyse gereinigt werden konnte.

Ich sättigte desshalb entweder die Milch direkt mit Magnesiumsulfat oder fällte zuerst das Casein mit Kochsalz, darauf das Globulin mit Magnesiumsulfat. Das in solcher Weise erhaltene, vollständig casein- und globulinfreie, aber mit Salz gesättigte Filtrat wurde alsdann mit Essigsäure gefällt, wodurch immer eine reichliche weisse Fällung entstand. Nach Hammarsten verträgt eine Serumalbuminlösung bis 1 % Essigsäure ohne eine Veränderung zu erleiden[2]); ich habe gewöhnlich 1/4 % Essigsäure angewendet und eine vollständige Fällung damit erhalten. Bei Anwendung von 0,075—0,20 % Säure erhielt ich dagegen immer mehr Fällung, wenn ich zum Filtrate mehr Säure zusetzte. Es scheint, als wenn die zum Hervorrufen des Niederschlages und dessen

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VIII. S. 496.

[2]) Johansson hat gefunden, dass man ohne Gefahr sogar bis 2% Essigsäure in der mit Salz gesättigten Albuminlösung gehen kann (Upsala läkareförenings förhandlingar XX. 1885. p. 101. — Zeitschrift für physiologische Chemie, X.).

vollständigen Ausfällung nothwendige Säurequantität etwas abhängig ist von der Concentration der Lösung. Während ich nämlich bei der Behandlung von gewöhnlicher süsser Milch in beschriebener Weise immer eine (wenn auch unvollständige) Fällung mit 0,1 % Essigsäure bekam, so musste ich bei einem Versuche mit Colostrum 0,2 % Essigsäure zusetzen, ehe der Niederschlag sich zu zeigen anfing, und bei einem Gehalte von 0,25 % Säure war die Fällung noch sehr unvollständig; nach Zusatz von 0,5 % Säure wurde dagegen nichts mehr gefällt. Uebrigens zeigten sich die Eigenschaften des Niederschlages ganz gleich, ob man zur Fällung mehr oder weniger Säure, innerhalb der angeführten Grenzen, benutzt hat.

Der ausgeschiedene Niederschlag, der eine gelatinöse Consistenz zeigte, wurde auf Filtern gesammelt und nach hinreichendem Abtropfen zwischen Filtrirpapier gepresst, um von Mutterlauge befreit zu werden. Es wurde dann der Niederschlag nebst Filter in wenig Wasser aufgeweicht, genau mit Natronlauge neutralisirt, und die so erhaltene Lösung gab, wenn sie nach dem Filtriren auf's Neue mit Magnesiumsulfat gesättigt wurde, nur selten weitere Fällung. Indessen wurden immer 1—2 Reinigungen des Lactalbumins vorgenommen, indem die erhaltene Lösung mit Magnesiumsulfat gesättigt wurde und darauf mit 1/4 % Essigsäure gefällt wie oben. Bei dieser zweiten und dritten Fällung zeigte es sich, dass 1/4 % Säure immer zur vollständigen Fällung hinreichte.

Es wurde endlich der Niederschlag in einer minimalen Menge Wasser gelöst und darauf einer kräftigen Dialyse in den von Kühne empfohlenen künstlichen Wursthäuten aus Pergamentpapier unterworfen. Zuerst wurde gegen Wasserleitungswasser, darauf gegen destillirtes Wasser dialysirt. Wenn die Flüssigkeit bei der Dialyse sehr verdünnt wurde, concentrirte ich sie bei 30—40° C. auf Uhrgläsern und setzte darauf wieder die Dialyse fort. Die so erhaltene, möglichst salzfreie Lösung von Lactalbumin wurde nun theils direkt zur Untersuchung benutzt, theils mit einem grossen Ueberschusse von starkem Alkohol gefällt, der Niederschlag rasch

filtrirt und gewaschen zuerst mit starkem Alkohol, darauf mit Aether. Nach gehörigem Pressen, Feinreiben und Trocknen der Fällung erhält man alsdann das Lactalbumin als ein feines, weisses Pulvĕr, welches sich bei umsichtsvoller Arbeit als vollständig löslich in Wasser zeigt.

Eine Lösung von reinem Lactalbumin gab keine Spur von Niederschlag durch Sättigung mit Magnesiumsulfat bei 40°, auch nicht mit Natriumsulfat bei gewöhnlicher Temperatur, dagegen wohl, wenn man mit diesem Salze bei 30° sättigt. Ammoniumsulfat in Substanz fällt den Körper bei gewöhnlicher Temperatur. Eine Spur von Essigsäure rief keinen Niederschlag in der salzarmen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur hervor; dagegen coagulirte sie reichlich beim Kochen mit einer Spur von Essigsäure.

Die Coagulationstemperatur wurde bestimmt sowohl für eine möglichst salzfreie Lösung durch Dialyse erhalten, wie für diese Lösung nach Zusatz von Kochsalz. Es zeigte sich hierbei eine Steigerung der Coagulationstemperatur mit steigendem Kochsalzgehalte. Die dialysirte Lösung enthielt 2—3% Albumin und ca. 0,06% Asche, und die Coagulation trat in diesem Falle bei ca. 72° C. ein, nachdem die Flüssigkeit schon bei ca. 62—67° C. stark opalisirend war.

1. Die Lösung enthielt 3,3% Lactalbumin und 0,065% Aschenbestandtheile. Sie wurde bei 67° C. opalisirend, coagulirte bei 72° C. Nach Zusatz von so viel Kochsalzlösung, dass die Mischung 0,5% Salz enthielt, trat die Opalescenz bei 70° C., die Coagulation bei 72° C. ein, und bei einem Kochsalzgehalte von 5% fanden sowohl die Opalescenz, wie die Coagulation sich erst bei 78° C. ein.
2. Die Lösung enthielt 2,2% Lactalbumin und 0,015% Aschenbestandtheile. Sie wurde in zwei Portionen getheilt, von denen die eine mit 2,5%, die andere mit 5% Kochsalz gemischt wurde. Beim Erhitzen fing erstere bei 70° zu opalisiren an, letztere bei 80°, während die Coagulation bei 80°, bezw. 84° stattfand.

Das Resultat lässt sich in folgender Zusammenstellung ersehen:

		salzfrei	0,5% Salz	2,5% Salz	5% Salz
1.	opalescirend .	67°	78°	—	—
	coagulirend .	72°	78°	—	—
2.	opalescirend .	—	—	70°	80°
	coagulirend .	—	—	80°	84°

Sämmtliche genannten Verhältnisse stimmen ganz mit dem überein, was Starke[1]) beim Untersuchen des Serumalbumins fand. Um desto mehr auffallend war das Resultat, welches ich beim Bestimmen des optischen Drehungsvermögens des Lactalbumins erhielt. Es wurde hierbei ein Wild'sches Polariskop benutzt und die Ablesungen geschahen bei Natriumlicht 5—10mal in jedem der drei Quadranten (indem der 4. Quadrant des Apparats ungenaue Resultate gab).

	Trockenrückstand in 10 ccm.	Hiervon Glühungsrückstand.	Röhrenlänge.	Durchschnittswerthe der Ablesungen in jedem der drei Quadranten.			$[\alpha]_D$
a.	0,220 gr.	0,0015 gr.	20 cm.	÷ 1,60°	÷ 1,56°	÷ 1,66°	÷ 36,6°
b.	0,332 «	0,0065 «	20 «	÷ 2,40°	÷ 2,40°	÷ 2,30°	÷ 36,4°
c.	0,423 «	0,012 «	10 «	÷ 1,57°	÷ 1,50°	÷ 1,48°	÷ 36,98°

a ist ein Lactalbumin aus Colostrum dargestellt, b und c rühren von normaler Milch her.

Nach den angestellten Versuchen würde also das specifische Drehungsvermögen des Lactalbumins ca. ÷ 37° betragen.

Da Starke (l. cit.) aber für Serumalbumin verschiedener Abstammung $[\alpha]_D$ zwischen ÷ 60° und ÷ 64° liegend fand, kam mir mein Resultat ziemlich auffallend vor. Die für gewöhnlich angenommene Identität zwischen dem Serumalbumin und dem Lactalbumin schien hierdurch nicht bestätigt zu werden. Es lässt sich nun zwar einwenden, dass das von mir untersuchte Lactalbumin von Kuhmilch herrührt, wogegen das von Starke untersuchte Serumalbumin theils aus Hydroceleflüssigkeit, theils aus Ascitesflüssigkeit, theils aus Pferdeblutserum, dagegen nicht aus Rindsblutserum dargestellt war; und es lässt sich ja denken, dass das Serumalbumin im Rindsblut mit dem im Pferdeblute nicht ganz identisch sei, namentlich, da nach Frédéricq[2]) das Serumalbumin im Hundeblut ein bedeutend geringeres Drehungsvermögen als dasjenige von anderen Blutsorten besitzen soll. Indessen hat auch Frédéricq[3]) Bestimmungen von $[\alpha]_D$ des

[1]) Upsala läkareförenings förhandlingar, Vol. XVI, p. 620; Maly's Jahresbericht 1881.

[2]) Archiv de biologie, Vol. II, 1881.

[3]) Ibid., Vol. I, 1880.

Serumalbumins in Rindsblutserum vorgenommen, und giebt er diese Grösse als zwischen ÷ 55° und ÷ 56° liegend an. Wenn man nun auch annimmt, dass die Präparate Frédéricq's stark von Paraglobulin verunreinigt gewesen sind, wozu die von ihm benutzte Darstellungsweise wohl berechtigt, so folgt doch hieraus, dass der Werth von $[\alpha]_D$ für das Serumalbumin in Rindsblutserum sich ÷ 60° nähern muss, weil das Paraglobulin mit seinem specifischen Drehungsvermögen von ÷ 48° das Drehungsvermögen des Serumalbumins nur verringern kann.

Eine wesentlichere Einwendung würde dagegen diese sein, dass das Lactalbumin in Folge seiner Darstellungsweise durch die wiederholte Ausfällung mittelst Säure möglicherweise eine Veränderung erleidet. Obgleich dies nicht wahrscheinlich ist, indem das Drehungsvermögen der Albuminkörper durch die Bildung von Acidalbumin eben vergrössert wird[1]), und die Acidalbuminate ausserdem in neutralen Salzlösungen nicht löslich sind, und desshalb bei der Neutralisirung der Flüssigkeit und dessen Sättigung mit Magnesiumsulfat ausgefällt werden würden, so schien es mir doch nothwendig, einen Controlversuch anzustellen und zwar um desto mehr, als das von Starke beschriebene Serumalbumin ohne Anwendung von Säure dargestellt war.

Ich stellte desshalb ein Lactalbumin dar, ganz analog mit dem Serumalbumin Starke's, wobei jede denkbare Veränderung mittelst Säure vermieden wurde. Nach dem Fällen der Milch mit Magnesiumsulfat wurde das Filtrat bei 40° C. mit fein gepulvertem Natriumsulfat gesättigt. Der hierdurch erhaltene Niederschlag wurde bei 40° C. abfiltrirt und in Wasser gelöst; diese Lösung wurde abermals mit Magnesiumsulfat gesättigt und wie oben behandelt. Die wässerige Lösung des in dieser Weise mittelst Natriumsulfat in der Wärme gefällten Lactalbumin wurde alsdann kräftig dialysirt und schien danach ganz dieselben Eigenschaften zu be-

---

[1]) Cfr. Hoppe-Seyler: Handbuch der physiologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S. 269.

sitzen als wenn es durch Fällen mit Essigsäure aus der gesättigten Salzlösung erhalten war.

Die Bestimmung der Coagulationstemperatur ergab:

	salzfrei	0,5% Salz	5% Salz
opalescirend .	62°	67°	80°
coagulirend .	72°	77°	84°

Dieselbe Lösung wurde zur Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens, mit folgendem Resultate benutzt:

Trocken-rückstand in 10 ccm.	Hiervon Glühungs-rückstand.	Röhren-länge.	Durchschnittswerthe der Ablesungen in jedem der drei Quadranten.			[α]D
0,312 gr.	0,007 gr.	20 cm.	÷ 2,33°	÷ 2,35°	÷ 2,27°	÷ 38,0°

welches wohl hinreichend übereinstimmend mit den vorigen Bestimmungen ist, um zu zeigen, dass das Lactalbumin bei der Ausfällung mittelst Säure keine Veränderung erlitten hat.

Da noch die Möglichkeit denkbar war, es liesse sich der geringe Werth des specifischen Drehungsvermögens des Lactalbumins durch eine Verunreinigung mit dem rechtsdrehenden Milchzucker erklären, wurde die erhaltene Lösung durch Kochen mit Natron und ein wenig Kupfersulfat geprüft, aber selbst nach Stehen bis zum nächsten Tag zeigte sich keine Spur von Reduktion.

Zum ferneren Vergleich wurde noch eine reine Serumalbuminlösung aus Rindsblutserum nach der von Starke benutzten Methode unter ausschliesslicher Anwendung von Neutralsalz, dargestellt. Nach dem Entfernen der Salze mittelst Dialyse wurde das specifische Drehungsvermögen bestimmt (I). Die hierzu benutzte Lösung wurde darauf wieder mit Magnesiumsulfat gesättigt und mit 0,25% Essigsäure gefällt, worauf der Niederschlag abfiltrirt, gepresst, in Wasser gelöst, neutralisirt und durch Dialyse von Salz befreit wurde. Die Lösung wurde danach im Polariskop untersucht (II).

	Trocken-rückstand in 10 ccm.	Hieraus Glühungs-rückstand.	Röhren-länge.	Durchschnittswerthe der Ablesungen in jedem der drei Quadranten.			[α]D
I.	0,207 gr.	0,003 gr.	10 cm.	÷ 1,28°	÷ 1,24°	÷ 1,28°	÷ 62,6°
II.	0,2345 «	0,0015 «	10 «	÷ 1,41°	÷ 1,40°	÷ 1,40°	÷ 60,1°

Es kann somit keinem Zweifel länger unterliegen, dass das Lactalbumin wirklich ein bedeutend geringeres specifisches Drehungsvermögen als das Serumalbumin besitzt, und dass letzteres also ebensowenig wie die meisten übrigen Blutbestandtheile in die Milch unverändert übertritt, sondern in den Milchdrüsen eine wesentliche Umänderung erleidet.

Mit Hinsicht auf die Ansicht von Duclaux[1]), nach welcher sämmtliche Eiweisskörper der Milch und namentlich das Lactalbumin nur als Caseinmodificationen zu betrachten sind, indem sie nur durch verschiedene Löslichkeit und ähnliche physikalischen Eigenschaften von einander verschieden seien, mag es einige Berechtigung haben, das Casein und das Lactalbumin mit einander etwas zu vergleichen. Hat Duclaux Recht, so müssen die beiden genannten Körper nämlich die gleiche elementare Zusammensetzung haben.

Das zur Analyse verwendete Lactalbumin wurde mehrmals mit Alkohol ausgekocht, um von einem möglichen Gehalt von etwas Lecithin befreit zu werden.

0,3545 gr. Substanz hinterliess 0,004 gr. Asche, d. h. . . **1,13%**
und gaben 0,6745 gr. CO_2, d. h. auf aschefreie Substanz berechnet . . . . **52,19% C,**
nebst 0,2265 gr. H_2O, d. h. . . . . **7,18% H.**
0,337 gr. Substanz gaben 43,3 ccm. N bei 4,5° C. und 750 mm. gemessen, d. h. in aschefreier Substanz . . **15,77% N**
1,135 gr. Substanz gaben 0,141 gr. $BaSO_4$, d. h. 1,71% S oder in aschefreier Substanz . . . . **1,73% S,**
nebst 0,0075 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. h. 0,18% P.

Wenn man ihm auch keine grössere Bedeutung beilegen wird, so ist es doch bemerkenswerth, dass der Kohlenstoffgehalt in reinem Casein im Mittelwerth 53% ist, nie aber so tief hinuntergeht, wie hier für Lactalbumin gefunden.

---

1) In einer Abhandlung: «Ueber die Eiweisskörper der Milch» in «Mittheilungen der amtlichen Lebensmittel-Untersuchungs-Anstalt zu Wiesbaden, 1884» kommt Pfeiffer zu einem ähnlichen Resultat wie Duclaux, indem er zwischen einem a-, b-, c- und d-Casein unterscheidet und sämmtliche Eiweisskörper der Milch zu diesen Modificationen hinrechnet. Seine Resultate entbehren jedoch aller wissenschaftlichen Begründung und möchten durch das Vorliegende hinreichend entgegnet sein.

Grösseres Interesse bieten dagegen die Bestimmungen von Schwefel und Phosphor. Sie wurden nach der von Hammarsten[1]) angegebenen Methode ausgeführt durch Zersetzung der Substanz mit Salpetersäure, Eindampfen zur Trockne, Zusatz von Ueberschuss an reiner (d. h. schwefelsäurefreier) Soda und nach nochmaligem Eintrocknen Vollendung der Oxydation durch Erhitzen unter Zusatz von wenig Salpeter. In der oxydirten Masse wurde die Schwefelsäure als Baryumsalz bestimmt unter Beachtung aller Vorsichtsmassregeln, und im Filtrate vom Baryumsulfat wurde der Ueberschuss an Chlorbaryum durch Magnesiumsulfat gefällt, und im neuen Filtrat nach dessen Uebersättigung mit Ammoniak die Phosphorsänre als Magnesium-Ammoniumphosphat gefällt. Dieser Niederschlag wurde abermals in wenig Salpetersäure gelöst, mit Molybdänflüssigkeit nach gewöhnlichen Regeln gefällt und endlich der Phosphor als als Magnesiumsalz bestimmt.

Da der geringe Gehalt an Schwefel (0,7—0,8%) im Casein keinem Zweifel länger unterliegen kann[2]), findet sich hier ein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Haupt-Eiweisskörpern der Mich. Man wird vielleicht einwenden, dass der Gehalt des Lactalbumins an Schwefel zu hoch gefunden sei, weil bei der Darstellung des Körpers fast ausschliesslich Sulfate angewendet sind, die bei der Dialyse nicht vollständig wieder entfernt wurden. Hierauf werden wir jedoch antworten, dass sowohl bei der analysirten Substanz, wie bei mehreren anderen Präparaten, die (stets alkalisch reagirende) Asche qualitativ untersucht wurde, wobei es sich ergab, dass sie nur eine sehr geringe Spur von Schwefelsäure enthielt, dagegen überwiegend aus Kalk und Phosphorsäure bestand. Selbst wenn wir aber annehmen, dass die ganze Aschenmenge nur aus Magnesiumsulfat bestände, so würde dies bewirken, das der Schwefelgehalt des Lactalbumins auf 1,41% hinunterging, also noch ungefähr doppelt so hoch, wie im Casein.

---

[1]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, S. 257 u. ff.
[2]) Ebendaselbst, Bd. IX, S. 274.

Ein anderes Präparat von etwas geringerer Reinheit (mit 2,6% Asche) gab mir aus 0,757 gr. Substanz 0,105 gr. $BaSO_4$, d. h. berechnet auf aschefreie Substanz 1,96% S, oder wenn sämmtliche Asche als Magnesiumsulfat gerechnet wird, 1,58% S.

Durch seinen verhältnissmässig hohen Schwefelgehalt schliesst das Lactalbumin sich sowohl dem Serumalbumin, als dem Ovalbumin[1]) an, während es in dieser Beziehung vom Casein verschieden ist.

Der geringe Phosphorgehalt deutet ebenfalls auf einen Unterschied des Caseins hin, welches letztere 0,8% Phosphor enthält. Die eigentlichen Albumine (Serum- und Ovalbumin) werden gewöhnlich als phosphorfrei betrachtet. Es wird wohl auch am richtigsten sein, die im Lactalbumin bestimmte kleine Phosphormenge als von einer geringen Verunreinigung mit Phosphaten herrührend zu betrachten. Durch den ursprünglichen Gehalt der Milch an Calciumphosphat und durch die Schwierigkeit bei der Entfernung sämmtlicher dieser Aschenbestandtheile, welche wir immer bei der Einaschung des Körpers in sichtbarer Menge nachweisen konnten, wird diese Annahme in hohem Grade wahrscheinlich gemacht. Berechnen wir die ganze Aschenmenge im genannten reinen Präparat als $Ca_3P_2O_8$, so werden wir finden, dass 1,3% Asche, d. h. 13 mgr. 2,6 mgr. Phosphor enthalten sollen, während bei der Analyse 2,1 mgr. gefunden wurden. Dies stimmt darin überein, dass sich in der Asche nur eine geringe Spur von Schwefelsäure nachweisen liess.

Das ebenfalls oben berührte weniger reine Präparat gab bei der Analyse von 0,757 gr. Substanz 0,005 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. h. 1,4 mgr. P, oder 0,16% Phosphor. In diesem Falle würden die 2,6%, d. h. 20 mgr. Asche als $Ca_3P_2O_8$ berechnet, 4 mgr. Phosphorsäure erfordern, also etwas mehr wie bei der Analyse gefunden; in diesem Falle zeigte sich aber auch die qualitative Reaction der Schwefelsäure in der Asche scheinbar stärker als oben.

---

[1]) Starke: L. cit.

Noch ist zu bemerken, dass nachdem sämmtliche bekannte phosphorhaltige Eiweisskörper als Nucleoalbumine zu betrachten sind, wäre es zu erwarten, dass auch das Lactalbumin, falls es den Phosphor als wesentlichen Bestandtheil enthielt, sich als ein Nucleoalbumin verhalten würde. Indessen wurde eine schwach salzsaure Lactalbuminlösung während 24 Stunden bei 40° C. mit einem stark pepsinhaltigen Glycerinextract von Hühnermagen digerirt, ohne dass sich eine Ausscheidung von Nuclein wahrnehmen liess.

Wird die vorliegende Elementaranalyse mit den früheren von Musso und Menozzi und von Engling verglichen, dann findet man einen bedeutenden Unterschied.

	Musso und Menozzi.	Engling.		Sebelien.
		norm. Milch.	Colostrum.	
C	53,74	54,25	54,68—53,3	52,19
H	5,95	7,19	7,16— 7,5	7,18
N	15,52	14,76	15,43--15,2	15,77
S	1,55	1,33	1,18— 1,1	1,73

Leider sehe ich mich nicht im Stande, bis jetzt mehr als die eine vollständige Analyse von reinem Stoffe mitzutheilen (eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode mit einer weniger reinen Substanz ausgeführt ergab 15,66% N), aber die Bestimmungen sind mit der grössten Sorgfalt ausgeführt worden, so dass die Abweichungen von den früheren Analysen kaum in analytischen Fehlern zu suchen sind. Wie schon berührt, sind aber auch die früheren als Lactalbumin bezeichneten Körper mit dem jetzt beschriebenen nicht unmittelbar vergleichbar. Inwiefern die hohen Angaben vom Kohlenstoffgehalte und die niedrigen Angaben vom Stickstoff- und Schwefelgehalte der älteren (übrigens unter sich ziemlich differirenden) Analysen ausser von der Verunreinigung des aus den Molken direct coagulirten Albumins mit fremden Bestandtheilen, auch daher rühren mögen, dass das coagulirte Albumin wirklich eine andere elementare Zusammen-

setzung als das nicht coagulirte besitzt, vermag ich noch nicht abzumachen.

Die genannten drei fremden Forscher haben sich bei der Bestimmung vom Kohlen- und Wasserstoff der Verbrennung mit Bleichromat bedient, wogegen ich mit Kupferoxyd im Sauerstoffgasstrom verbrannte. Wäre indessen hierbei etwas schweflige Säure gebildet, welche in den Absorptionsröhren in meinem Versuche zurückgeblieben wäre, so würde die Abweichung meiner Analyse gerade in entgegengesetzter Richtung stattgefunden haben.

Den möglichen Unterschied bezüglich der elementaren Zusammensetzung zwischen dem Lactalbumin der normalen Milch und des Colostrums habe ich nicht untersucht, weil die Präparate sich in optischer Hinsicht gleich erwiesen; immerhin ist es ja desshalb nicht unmöglich, dass ein solcher Unterschied existiren kann[1]).

Zum Schluss erlaube ich mir noch Herrn Prof. Hammarsten meinen aufrichtigen Dank zu bringen, für die grosse Liberalität, womit er sein Laboratorium zu meiner Verfügung gestellt hat, sowie überhaupt für seine vielfache und freundliche Unterstützung und seinen erfahrenen Rath, der mir während meiner Arbeit zu Theil wurde.

---

[1]) In diesem Zusammenhange kann ich anführen, dass ich im Casein von Colostrum 15,7% N, 0,73% S und 0,72% P gefunden habe, also mit der Zusammensetzung des Caseins der normalen Milch ganz übereinstimmend.

Eine einfache Methode zur künstlichen Darstellung von Hippursäure und ähnlich zusammengesetzten Verbindungen.

Von

J. Baum.

(Aus dem Universitätslaboratorium [medicinische Fakultät] Freiburg i. B.)
(Der Redaktion zugegangen am 23. März 1885.)

Die bisher erforschten Synthesen der Hippursäure aus Benzoylchlorid und Metallverbindungen des Glycocolls, oder aus Chloressigsäure und Benzamid liefern bekanntlich nur geringe Ausbeute. Man hat desshalb diese Methoden niemals zur Gewinnung der Hippursäure und ähnlich constituirter Verbindungen benutzt. In neuerer Zeit hat Curtius[1]) eine Synthese der Hippursäure beschrieben, welche, wie es scheint, allen Anforderungen entspricht. Bei dieser Darstellung wird trockenes Glycocoll in erhitztes Benzoesäureanhydrid allmälig eingetragen und im Oelbade erwärmt, bis die Masse sich roth färbt.

Ich habe kürzlich, bei Gelegenheit einer von Schotten und mir begonnenen Untersuchung über ein Oxydationsprodukt des Benzoylconiins[2]), eine andere Bildungsweise der Hippursäure gefunden, welche auf einem noch einfacheren Prinzip als die Synthese von Curtius beruht.

Man hat, wie es scheint, bisher Bedenken getragen, das Benzoylchlorid auf neutrale in Wasser gelöste Substanzen einwirken zu lassen, um eine Benzoylirung zu erzielen, in der Voraussetzung, dass die Gegenwart von Wasser

---

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVII, S. 1663.

[2]) Vgl. Schotten und Baum: Ebendaselbst, Bd. XVII, S. 2548.

eine derartige Reaction verhindere, und dass das Benzoylchlorid dabei ausschliesslich in Salz- und Benzoesäure zerfalle. Diese Voraussetzung ist nicht zutreffend. Schon der erste Versuch ergab in dieser Beziehung ein überraschendes Resultat.

Löst man Glycocoll in wenig Wasser, fügt einige Tropfen Natronlauge zu und schüttelt mit Benzoylchlorid, welches allmälig im Ueberschuss zugesetzt wird, macht schliesslich mit Natronlauge stark alkalisch, so wird das angewendete Glycocoll fast vollständig in Hippursäure übergeführt. Aus der alkalischen Lösung hat man nun blos, nach dem Ansäuern mit Schwefel- oder Salzsäure, das abgeschiedene Gemenge von Benzoe- und Hippursäure zu trennen, was am Einfachsten durch Extraktion mit reinem Aether geschieht. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser ist die Säure vollständig rein.

Andere Säuren, welche bei der Einwirkung von Benzoylchlorid auf Glycocollsilber, wie Curtius gezeigt hat, gebildet werden, entstehen bei dieser Reaction gar nicht, oder nur in ganz kleinen Mengen. Aus 2 gr. nicht ganz reinem Glycocoll wurden bei der ersten Darstellung über 1½ gr. reiner Hippursäure gewonnen, welche den Schmelzpunkt von 187—188° zeigte. Die oben erwähnte Trennung mit Aether, das Umkrystallisiren aus Wasser, bedingt einen nicht unerheblichen Verlust, der in der angegebenen Ausbeute nicht mit einbegriffen ist.

Die Analyse der bei 100° getrockneten Säure ergab die von der Theorie geforderten Zahlen:

Berechnet für $C_9H_9NO_3$:			Gefunden:
C_9	108	60,34	60,25%
H_9	9	5,03	5,29 »
N	14	7,82	8,10 «
O_3	48	26,81	—
	179	100,00	

Die Bildung der Hippursäure aus Benzoylchlorid und Glycocoll erfolgt also unter denselben Bedingungen, unter

welchen man das Benzamid aus wässerigem Ammoniak und Benzoylchlorid, die Benzhydroxamsäure aus Hydroxylamin und Benzoylchlorid, das Benzoylconiin aus Coniin und Benzoylchlorid erhält.

Das Alanin wurde in der nämlichen Weise mit Benzoylchlorid behandelt und dabei ein analoges Resultat erzielt.

Das bei diesem Versuch durch Salzsäure abgeschiedene Benzoylanalin wurde zur Entfernung der Benzoesäure zu wiederholten Malen mit Petroleumäther erhitzt, der Rückstand mit wenig Aether ausgewaschen und aus heissem Aether umkrystallisirt. So dargestellt, bildet die benzoylirte Amidopropionsäure weisse, glänzende Blättchen, leichter als die Hippursäure in Wasser und Alkohol löslich, schwer löslich in Aether. Die Krystalle sind bei 165—166° unzersetzt schmelzbar; höher erhitzt, zersetzen sie sich jedoch unter Entwickelung stechender Dämpfe und Abscheidung von Kohle.

Die Stickstoffbestimmung der bei 100° getrockneten Substanz ergab folgenden Werth:

Berechnet nach der Formel: $CH_3CH\ (NHCOC_6H_5)\ COOH$	Gefunden:
7,25%	7,52%

Noch andere Amidosäuren zeigen ein ähnliches Verhalten, wie das Glycocoll. Indessen ist es mir bis jetzt nicht gelungen, in gleicher Weise aus dem Taurin die entsprechende Benzoylverbindung darzustellen. In der Hoffnung, auch aus dem Tyrosin die der Hippursäure analoge Verbindung zu erhalten, habe ich diesen Körper in der gleichen Weise wie das Glycocoll mit Benzoylchlorid behandelt. Dabei ergaben sich aber ganz andere Verhältnisse.

Schüttelt man Tyrosin in wässeriger alkalischer Lösung mit Benzoylchlorid, macht schliesslich mit Natronlauge stark alkalisch, so bleibt eine in Flocken abgeschiedene Substanz ungelöst zurück. Dieser Körper ist in Alkalien, Säuren und Wasser unlöslich, löst sich aber leicht in Alkohol, Aether und Chloroform. Durch Umkrystallisiren aus Alkohol kann er gereinigt werden. Er stellt alsdann ein weisses Pulver

dar, welches beim Kochen mit Millon'schem Reagens keine Rothfärbung giebt. Auch nach vorausgegangenem Kochen mit concentrirter Kalilauge und Ansäuern mit Salpetersäure tritt diese Reaction nicht ein. Die Untersuchung dieser Substanz hat bis jetzt ergeben, dass mehrere Benzoylgruppen in das Molekül des Tyrosins eingetreten sind. Ueber die Zusammensetzung dieses Körpers, sowie über andere Einwirkungen von Säurechloriden auf Amido- und Imidosäuren hoffe ich demnächst weitere Mittheilungen machen zu können.

Fettbildung und Fetttransport bei Phosphorintoxication.

Von

Dr. med. et phil. Hans Leo.
Assistent an der medicinischen Poliklinik.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 1. April 1885.)

Während man sich früher allein auf Grund des anatomischen Befundes zu der Annahme berechtigt glaubte, dass bei Phosphorvergiftung neugebildetes Fett auftrete, behauptete Bauer[1]), zuerst durch chemische Analyse den Nachweis geliefert zu haben, das hierbei Fett aus sonstigen Körperbestandtheilen und zwar, wie er meint, aus Eiweiss entstehe.

Seitdem bildete den Hauptgegenstand der Discussion, mit und ohne experimentelle Basis, die Frage nach der in Qualität und Quantität unter dem Einfluss der Phosphorintoxication veränderten Eiweisszersetzung. Ich muss es mir versagen auf die bezügliche umfangreiche Literatur hier näher einzugehen. Der Beweis dafür, dass eine Fettbildung stattfinde, wurde von den meisten Autoren, die sich mit einschlägigen Versuchen beschäftigten, entweder als durch Bauer erbracht angesehen, oder die Frage höchstens in zweiter Linie ventilirt.

Vor nicht langer Zeit ist indessen eine Arbeit von Lebedeff[2]) erschienen, in welcher derselbe direkt die Frage der Fettbildung aufgreift und sich gegen die Versuche und Schlüsse von Bauer wendet. Ich will auf die weitausholende Kritik, welche Lebedeff an den Versuchen von Bauer ausübt, nicht näher eingehen, da ich diese Versuche weiter unten besprechen und auf kürzerem Wege zeigen werde, dass dieselben unzureichend zum Nachweis einer Fettbildung sind. Ich möchte zunächst auf den von Lebedeff selbst angestellten Versuch eingehen.

---

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. VII, S. 76.
[2]) Pflüger's Archiv, Bd. XXXI, S. 11.

Lebedeff behauptet, dass alles Fett im Körper aus der Nahrung herrühre, und dass das bei Phosphorintoxication in der Regel so massenhaft in der Leber und anderen Organen nachzuweisende Fett lediglich aus dem gewöhnlich im Unterhautzellgewebe abgelagerten Nahrungsfette stamme und von dort in die Leber transportirt worden sei. Um hierfür den Nachweis zu liefern, fütterte Lebedeff einen Hund während anderthalb Wochen ausschliesslich mit fettfreiem Fleisch und Leinöl. Hierauf wurde dem Hund Phosphor eingegeben, der nach 3½ Tagen den Tod bewirkte. Bei der Untersuchung fand sich eine exquisite Fettleber und zwar ergab die Analyse des Fettes, dass dasselbe zu etwa ⅔ aus Leinöl und nur zu ⅓ aus Hundefett bestand. Da nun das Leinölfett nicht durch Fettdegeneration im Körper entstanden sein kann, so schliesst Lebedeff: «Alles Fett, welches sich in der Leber vorfindet, ist unter dem Einflusse der Phosphorvergiftung dorthin eingewandert.»

Dieser Schluss ist unberechtigt. Denn erstens bestand nicht das gesammte Leberfett aus fremdem Fett, sondern ⅓ desselben aus Hundefett, so dass wenigstens ein Theil dieses Drittels unter dem Einfluss des Phosphors aus Körpersubstanz sich gebildet haben könnte. Zweitens dürfen wir nach einem zweiten Versuche Lebedeff's, den er dem erwähnten direkt anschliesst, annehmen, dass unter den von ihm gewählten Versuchsbedingungen auch ohne Phosphorvergiftung eine Einwanderung des fremden Fettes in die Leber stattgefunden hätte. Er führt nämlich einen Versuch an, in dem er einen Hund länger als eine Woche ebenfalls ausschliesslich mit fremden Fett fütterte. Auch hier fand sich, ohne dass eine Intoxication mit Phosphor stattgefunden hatte, eine exquisite Fettleber, deren Fett sich identisch erwies mit dem eingeführten fremden Fett. Es ist also sehr wahrscheinlich, dass in dem Vergiftungsversuch schon vor der Einwirkung des Phosphors eine Fettleber bestanden hat, so dass das Lebedeff'sche Versuchsthier schon vor Beginn des Versuchs sich unter ganz abnormen Stoffwechselbedingungen befand.

Mithin kann der Versuch von Lebedeff weder als Beweis gegen die Möglichkeit einer Fettbildung unter dem Einflusse der Phosphorintoxication gelten, noch als Argument für einen durch dieselbe bewirkten Transport von Fett in die Leber angesehen werden.

Wenden wir uns nun zu den viel früher erschienenen Arbeiten von Bauer, die das Angriffsobjekt Lebedeff's bilden, so finden wir, dass Bauer geradezu das Gegentheil von dem behauptet, was Lebedeff aufstellt. Bauer sagt, es findet keine Fettinfiltration statt, sondern das vermehrt gefundene Fett verdankt lediglich einem vermehrten Zerfall von Eiweiss seine Entstehung. Er glaubt, sich zu dieser Behauptung berechtigt, erstens: durch Stoffwechseluntersuchungen, die von Storch[1]), Schultzen und Riess[2]) und ihm selbst[3]) angestellt wurden[4]), zweitens: auf Grund von Fettbestimmungen, die er an Organen von drei an Phosphorvergiftung gestorbenen Hunden und einer Menschenleber gemacht hat. Bauer fand den Fettgehalt der Leber und Muskeln sehr erheblich vermehrt. Er giebt aber nur den Procentgehalt der einzelnen Organe an Fett an und vergleicht diesen mit dem Procentgehalt in den entsprechenden Organen normaler Thiere.

Ein im Vergleich zum normalen vermehrter Procentgehalt an Fett in einem Organ kann jedoch auf vier verschiedene Ursachen zurückgeführt werden. Erstens kann in das betreffende Organ aus dem übrigen Körper mehr Fett als normal zugeführt worden sein (Fettinfiltration). Zweitens kann in dem Organ eine Bildung von Fett auf Kosten anderer in demselben vorhandener Stoffe vor sich gegangen sein. In diesem Falle wird man im Allgemeinen von einer Fettbildung, resp. Fettdegeneration in dem betreffenden Organ sprechen. Der Procentgehalt an Fett in einem Organe kann

[1]) Storch: Archiv für klinische Medicin, Bd. II, S. 264.

[2]) Charité-Annalen, Bd. I.

[3]) Bauer: Zeitschrift für Biologie, Bd. VII, S. 63, Bd. XIV, S. 527,

[4]) Vgl. auch die Arbeiten von Fränkel: Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 439; Berl. Klin. Wochenschr. 1879 Nr. 19 etc.

aber auch vermehrt sein, ohne dass eine Fettinfiltration oder Fettbildung in demselben stattgefunden, und zwar sind hier wieder zwei Möglichkeiten zu unterscheiden. Es lässt sich nämlich denken, dass die Oxydations- und übrigen Zersetzungsvorgänge der das Organ bildenden Bestandtheile mit Ausnahme des Fettes in normaler Weise vor sich gehen, während die Fettzersetzung vermindert ist, oder es kann zwar die Zersetzung des Fettes eine normale, dagegen die der übrigen Bestandtheile des Organs und zugleich die Ausscheidung der entstandenen Zersetzungsprodukte eine vermehrte sein. In beiden letzteren Fällen wird sich ebenso wie bei Fettinfiltration oder Fettbildung eine Vermehrung des Procentgehaltes an Fett in dem betreffenden Organ zeigen. Da jede dieser vier Eventualitäten auch mit jeder oder mehreren der anderen zugleich in Action treten kann, so ergiebt sich eine Fülle von Möglichkeiten, die geeignet sind, eine procentische Vermehrung des Fettgehaltes eines einzelnen Organes zu bewirken.

Es leuchtet also ein, dass aus einem Befunde, der lediglich besagt, dass der Procentgehalt an Fett in einem Organ grösser als normal ist, zunächst kein Schluss auf die Ursache dieses Befundes gestattet ist. Da Bauer die Ansicht vertritt, dass das Fett nur aus Eiweiss im Körper entstehen könne und ein constantes Zersetzungsprodukt des Eiweisses sei, so erblickt er auch in Storch's und den übrigen Untersuchungen über die vermehrte Stickstoffausscheidung bei der Phosphorvergiftung einen Beweis für die Bildung des Fettes im Organismus. Ich kann mich seinen Schlussfolgerungen und Anschauungen, deren Ausgangspunkt mittlerweile als irrig erwiesen ist, nicht anschliessen.

Perls[1]) hat, um Fettinfiltration von fettiger Degeneration zu unterscheiden, eine Theorie aufgestellt, nach welcher erstere mit einer Abnahme des Wassergehaltes des betreffenden Organs, letztere ohne eine solche einhergehen soll. Es ist aber, abgesehen davon, dass Perls auf die Möglichkeit einer verminderten Fettzersetzung als Ursache der Verfettung

[1]) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften, 1873, S. 801.

eines Organes keine Rücksicht nimmt, nicht verständlich, warum eine vermehrte Zufuhr von Fett eine verringerte Zufuhr, resp. vermehrte Abfuhr von Wasser bei dem Organ bedingen soll, zumal wenn es sich um ein Organ wie die Leber handelt, das so bedeutende Volumenveränderungen eingehen kann.

A. Bewirkt die Phosphorvergiftung eine Neubildung von Fett im Organismus?

Man könnte vielleicht den Einwand machen, dass zur Entscheidung dieser Frage eine chemische Untersuchung überhaupt nicht nöthig sei, da Virchow schon längst Kriterien angegeben hat, die auf Grund mikroskopischer Untersuchung der betreffenden Organe eine Differenzirung von Fettdegeneration und Fettinfiltration gestatten. Virchow[1]) sagt indessen «dass eine endliche definitive Entscheidung dieser Fragen nur von der Chemie geliefert werden kann.»

Der Nachweis einer Fettbildung im Organismus aus Körpersubstanz liesse sich erbringen, wenn es gelänge, zu zeigen, dass die absolute Fettmenge, die ein Thier enthält, ohne dass eine Zufuhr von aussen stattgefunden, sich vermehrt hat.

Es leuchtet ein, dass für den vorliegenden Zweck ein Zuführen von Nahrung wesentliche Complicationen herbeiführen würde, und wurden daher nur Thiere im Inanitionszustande zu den Versuchen verwendet.

Zunächst sei ein Versuch angeführt, durch den bewiesen wurde, dass der procentische Fettgehalt eines gesammten vergifteten Thieres grösser ist als der eines nicht vergifteten, welches im übrigen unter denselben Bedingungen gelebt und zugleich getödtet ist. Dieser Nachweis ist bisher noch nicht geliefert, sondern nur gezeigt worden, dass einzelne Organe unter dem Einfluss der Phosphorvergiftung erheblich fettreicher werden, ohne zu bestimmen, ob nicht etwa an anderen Stellen eine entsprechende Abnahme des Fettgehaltes stattgefunden.

---

[1]) Virchow's Archiv, Bd. I. S. 152.

Bevor wir zur Beschreibung der einzelnen Versuche übergehen, seien die allen Versuchen gemeinsamen Anordnungen erwähnt.

Vor Beginn des Versuches wurden die Versuchs-, sowie die Controllthiere, nachdem sie längere Zeit hindurch täglich mit den gleichen Nahrungsmengen gefüttert waren, mehrere Tage ausser der Darreichung von Wasser unter völliger Nahrungscarenz gehalten. Hierauf wurden beide Thiere gewogen und, nachdem das eine mit Phosphor vergiftet, in getrennte Käfige placirt. Einige Schwierigkeit verursachte die Applicationsweise des Phosphors. Subcutane Injection von in Oel gelöstem Phosphor war unthunlich, weil die Einverleibung des Oeles in den Organismus die nachherige Bestimmung des Fettgehaltes des Thieres complicirt hätte. Es wurde daher eine andere Methode der Darreichung angewendet. Ein kleines Reagensgläschen, in dem sich ein Stückchen Phosphor befand, wurde zur Hälfte mit kochendem Wasser gefüllt, hierauf mit einem Korkstopfen verschlossen und bis zur Abkühlung des Wassers energisch geschüttelt. In Folge des Schüttelns wird der durch das heisse Wasser verflüssigte Phosphor auf das feinste vertheilt und setzt sich nach dem Abkühlen als sandförmiges Pulver zum Boden des Gefässes. Der so zubereitete in Wasser suspendirte feinpulverige Phosphor wurde nun vermittelst eines Glasröhrchens in den Anus des Thieres eingeblasen. Es bewährte sich diese Injection per anum entschieden besser als die Darreichung per os oder subcutane Application. Die Thiere zeigten bald die oft beschriebenen Vergiftungssymptome und ebenso war der Sectionsbefund ein charakteristischer. Nachdem der Tod eingetreten, wurde das Abdomen der Thiere geöffnet und unter Vermeidung jeden Verlustes an Blut oder sonstigen Bestandtheilen zunächst die Leber entfernt und in einem vorher gewogenen Gefässe das Gewicht derselben bestimmt. Hierauf wurde nach Unterbindung des Oesophagus und des unteren Endes des Mastdarmes der gesammte Gastrointestinaltractus aus dem Körper entfernt und gewogen. Nachdem nun Magen und Darm geöffnet und von ihrem Inhalte durch Ausspülen mit Wasser befreit waren,

wurden dieselben wieder gewogen und auf diese Weise das Gewicht des Magendarminhaltes, welcher von dem gefundenen Körpergewicht abzuziehen war, bestimmt.

Die Bestimmung des Fettgehaltes ward in der Weise vorgenommen, dass Leber und übriger Körper getrennt untersucht wurden. Die Leber wurde mittelst der Scheere zerkleinert und mehrere Tage behufs Entwässerung unter Alkohol aufbewahrt. Nachdem der Alkohol abgegossen, eingedampft und der Verdampfungsrückstand zu der zerkleinerten Leber hinzugefügt worden, wurde die Leber in einem Extractionsapparat mit Aether extrahirt und nach Verdampfung des Aethers das Gewicht des Aetherextractes, sowie der entfetteten und entwässerten Leber bestimmt. Bei der Behandlung des Gesammtkörpers minus Leber bediente ich mich der von Chaniewski[1]) angegebenen Methode. Die zergliederten Thiere, denen der von ihrem Inhalte befreite Magen und Darm wieder zugefügt worden, wurden in Bechergläsern mit Wasser übergossen und in einem Papin'schen Topfe während zwei Stunden gekocht. Wenn hierbei auch nicht, wie Chaniewski angiebt, der grösste Theil des Fettes sich in der wässerigen Flüssigkeit ansammelt, so wurde doch der Vortheil erzielt, dass nach beendigtem Kochen das gesammte Thier mittelst des Hackmessers sich zu einer leidlich homogenen Masse zerkleinern liess. Diese Masse wurde nun ebenfalls behufs Entwässerung mehrere Tage unter mehrmals erneuerten Alkohol gestellt, die Alkoholextracte vereinigt, abgedampft und der übrigen Masse zugefügt. Die Extraction der Masse mit Aether wurde nun in einem möglichst geräumigen Kolben so lange fortgesetzt, bis der neu aufgegossene Aether nichts mehr aufnahm. Nach Adampfen des Aethers wurde nun ebenso wie bei der Leber das Aetherextract, sowie der entfettete Trockenrückstand des Gesammtthieres minus Leber bestimmt. In allen 3 Versuchen wurde im Aetherextract der Lecithingehalt in bekannter Weise bestimmt. Eine Trennung der Fette von Cholesterin wurde nicht vorgenommen. In den beiden ersten Versuchen ist, wenn es nicht besonders

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. XX, 1884, S. 179.

erwähnt ist, unter Fett das gesammte Aetherextract, in Versuch III. Fett + Cholesterin zu verstehen.

I. Versuch.

Versuchsthiere: 2 Meerschweinchen von einem Wurf. Nach fünftägigem Hungern werden beide Thiere gewogen und wird dem einen in der oben beschriebenen Weise der Phosphor applicirt. Beide Thiere werden hierauf in getrennte Käfige gesetzt und erhalten auch ferner keine Nahrung. Am folgenden Tage sitzt das Phosphor-Thier still im Käfig. Tod am dritten Tag. Sofort bei Eintritt des Todes wird auch das Controllthier durch Genickschlag getödtet. Das Versuchsthier zeigte makroskopisch und mikroskopisch insbesondere an der Leber die oft beschriebenen der Phosphorvergiftung charakteristischen Erscheinungen, welche auf einen vermehrten Fettgehalt hindeuten.

Die weitere Untersuchung wurde hierauf in der oben beschriebenen Weise vorgenommen. Während die Extraction der Lebern nach etwa 8 Tagen beendet war, nahm die der Gesammthiere circa 3 Wochen in Anspruch.

Da es mir zunächst nur darauf ankommt, den Nachweis dafür zu liefern, ob der Fettgehalt des vergifteten Thieres vermehrt ist, so beschränke ich mich hier darauf, die Zahlen für den gefundenen Fettgehalt anzugeben, und werde die übrigen in diesem Versuche gesammelten Resultate weiter unten zusammenstellen.

Das Gewicht des Controllthieres (a) minus Magendarminhalt war 210, des wasserfreien Thieres 65,8 gr.; das Gewicht des vergifteten Thieres (b) minus Magendarminhalt 231, des wasserfreien 68,86 gr. Das Gesammtätherextract des ersten Thieres betrug 6,37 gr. = 3,03 % des wasserhaltigen resp. 9,6 % des wasserfreien Thieres, das des zweiten 13,37 gr. = 5,8 % des wasserhaltigen resp. 19,4 % des wasserfreien Thieres.

Es ergiebt sich also aus diesem Versuch, dass in der That die Quantität der in Aether löslichen Stoffe eines in Folge von Phosphorvergiftung gestorbenen Thieres gegen die Norm erheblich vermehrt ist.

Es kam nun weiter darauf an, die Ursache dieser Vermehrung zu eruiren. Dieselbe kann eine doppelte sein. Entweder sind die fettartigen Bestandtheile aus den übrigen Bestandtheilen des Körpers neu gebildet, oder das im Körper schon vorhandene Fett ist unzersetzt geblieben resp. in geringerem Maasse als normal zersetzt worden. Beide Möglichkeiten können selbstverständlich auch zugleich in Action getreten sein.

Nach Bauer [1]) findet unter dem Einflusse der Phosphorvergiftung eine geringere Aufnahme von Sauerstoff, sowie verringerte Abgabe von Wasser und Kohlensäure statt. Bauer schliesst hieraus, dass eine verminderte Fettzersetzung stattfindet. Ich will nicht weiter darauf eingehen, in wie weit die Einwände, welche Lebedeff [2]) und Falk [3]) gegen diese Respirationsversuche anführen, berechtigt sind. Selbst ihre Unanfechtbarkeit zugegeben, scheinen mir die Versuche eine Verminderung der Fettzersetzung höchstens wahrscheinlich zu machen, ohne sie zu beweisen. Unsere Kenntnisse über die chemische Zusammensetzung der pathologisch veränderten Organe und des Urins sind zu gering, als dass man behaupten dürfte, dass der in der Exspirationsluft fehlende Kohlenstoff im Organismus in Form von Fett zurückgeblieben sein müsse. Ich wählte zur Ermittelung des Thatbestandes einen anderen Weg.

Dem Einwande, dass die Vermehrung des Fettes in dem angeführten Versuche auf eine Verminderung der Fettzersetzung zurückzuführen sei, kann man in folgender Weise begegnen. Man ermittelt am Anfange des Versuchs den Fettgehalt des Versuchsthieres, dadurch, dass man ein Thier analysirt, von dem man voraussetzen darf, dass es denselben Fettgehalt wie das Versuchsthier hat. Enthält auch jetzt das vergiftete Thier mehr Fett als das vor Beginn der Vergiftung getödtete Controllthier, so ist damit eine Fettbildung erwiesen. Die Berechtigung einer derartigen Annahme wird bis zur Sicherheit gesteigert,

---

[1]) Bauer, Zeitschrift für Biologie, Bd. VII, S. 77.

[2]) Lebedeff, Pflüger's Archiv, Bd. XXXI, S. 25.

[3]) F. A. Falk, Arch. f. exper. Pathologie u. Pharmakologie Bd. VII. S. 377.

wenn man anstatt je eines Thieres je eine Gruppe von mehreren Thieren gleicher Ernährungsverhältnisse zum Versuche verwendet.

II. Versuch.

Es wurde von zwei Thieren von einem Wurf, die längere Zeit die gleiche Nahrung erhalten und darauf fünf Tage gehungert hatten, das eine gleich getödtet und sein Fettgehalt bestimmt. Das andere wurde mit Phosphor vergiftet und, als dasselbe nach Ablauf von vier Tagen unter den bekannten Vergiftungserscheinungen collabirte, ebenfalls getödtet und sein Fettgehalt bestimmt.

Zum Versuche wurden zwei Ratten gewählt. Diese Thiere schienen sich besser als Meerschweinchen zu den Versuchen zu eignen, weil der Inhalt ihres Magendarmtractus schneller resorbirt wird, so dass nach einer etwa eine Woche dauernden Hungerzeit der Magendarmkanal nur noch geringe Fäcalmengen enthielt, während Meerschweinchen nach ebenso langer Inanition noch ganz bedeutende Massen in ihrem Digestionsapparat beherbergen.

Das erste Thier (a), welches gleich getödtet wurde, wog nach Abzug des 4,3 gr. betragenden Darminhaltes 171,7 gr., wasserfrei 54,17 gr. Das zweite Thier wurde, nach Tödtung des ersteren, in oben beschriebener Weise durch Injection eines in Wasser suspendirten feinen Phosphorpulvers per anum vergiftet. Dasselbe wog am ersten Tage 150, am zweiten 144, am dritten 132 und am vierten, wo es getödtet wurde, 129 gr. Bei Oeffnung des Darmes fanden sich noch 5,3 gr. Fäces, nach deren Abzug sich ein Gewicht von 123,7 gr. für das vergiftete Thier ergiebt, für das wasserfreie ein Gewicht von 42,10 gr.

Der Leichenbefund ergab die der Phosphorvergiftung charakteristischen Erscheinungen, insbesondere bestand wieder eine exquisite Fettleber (s. u.). Trotzdem der Fettgehalt der Leber des Phosphorthieres um mehr als das Doppelte vermehrt war, ergab die Untersuchung des Gesammtfettgehaltes des mit Phosphor vergifteten Thieres, dass derselbe abgenommen hatte.

Das Phosphorthier enthielt nämlich (unter Zurechnung des Leberfettes) 3,3 gr. Aetherextract = 2,66 % des Gesammtthieres resp. 7,8 % des entwässerten Thieres. Dagegen ergab die Untersuchung des Controllthieres einen Gesammtgehalt von 6,55 gr. Aetherextract, entsprechend 3,81 % resp. 12,0 % des gesammten wasserhaltigen resp. wasserfreien Thieres.

Eine directe Entscheidung der Frage, ob Fett unter dem Einflusse der Vergiftung gebildet worden, lieferte dieser Versuch also nicht. Wenn es jedoch statthaft ist, trotz der Verschiedenheit der Versuchsthiere, das in diesem Experiment gefundene Resultat mit dem in Versuch I sich ergebenden Befund und den daran angeschlossenen Folgerungen zusammenzubringen, so gelangt man zu dem Wahrscheinlichkeitsschluss, dass eine Neubildung von Fett unter dem Einflusse des Phosphors stattgefunden hat. Denn wir sahen uns bei Versuch I behufs Erklärung des dort gefundenen vermehrten Fettgehaltes im Phosphorthier vor die Alternative gestellt, entweder anzunehmen, dass eine Neubildung von Fett stattgefunden oder dass weniger Fett als normal zersetzt worden sei. Auf Grund des eben angeführten Ergebnisses von Versuch II sind wir nun zu der Behauptung berechtigt, dass wenigstens hier bei dem Phosphorthier eine beträchtliche Fettzersetzung stattgefunden hat. Combiniren wir dies Resultat mit der oben gestellten Alternative, so sehen wir uns zur Annahme der ersten Möglichkeit genöthigt.

Mein Streben war nun darauf gerichtet, die Versuche so anzustellen, dass die Fettzersetzung möglichst ausgeschaltet wurde. Ich beschloss zu dem Ende Kaltblüter zu verwenden, in der Erwartung, dass bei dem sehr viel geringeren Stoffwechsel derselben die Fettzersetzung hier möglicher Weise eine verschwindende Rolle spielen würde. Nach einigen missglückten Versuchen gelang es mir auch hier und zwar bei Fröschen, deren Stoffwechsel im Winter bekanntlich ein minimaler ist, eine Phosphorvergiftung zu erzielen, indem ich den Phosphor ebenso wie bei den obigen Versuchen per anum incorporirte.

III. Versuch.

Von 18 Fröschen wurden 6 gleich bei Beginn des Versuchs getödtet, in oben beschriebener Weise zu einer möglichst homogenen Masse verarbeitet und auf ihren Fettgehalt untersucht. Der Magendarmkanal erwies sich als völlig frei von Ingesta. Von den restirenden 12 Fröschen wurden 6 mit Phosphor vergiftet und die übrigen 6 von ihnen getrennt. Am folgenden Tage zeigten sich die vergifteten Frösche etwas apathisch, am zweiten machte sich Auftreten beträchtlicher Gedunsenheit bemerklich, die am dritten Tage noch zugenommen hatte. Die Thiere lagen jetzt fast bewegungslos in ihrem Behältniss und wurden nach Ablauf des dritten Tages zugleich mit den noch übrigen 6 Fröschen getödtet. Der Leichenbefund der Phosphorthiere zeigte, wenn auch bei Weitem nicht in so hochgradigem Maasse wie bei den Warmblütern, die der Phosphorvergiftung charakteristischen Erscheinungen, mässige Fettleber und trübe Musculatur.

Die Untersuchung auf den Fettgehalt erfolgte bei den aus je 6 Individuen bestehenden Portionen wie bei den vor Beginn des Versuches getödteten 6 Fröschen. Auch hier fanden sich Magen- und Darmkanal frei von Inhalt.

Die Extraction der Gewebe mit Aether nahm bei den Fröschen eine sehr viel längere Zeit in Anspruch, als bei den früher untersuchten Warmblütern. Dieselbe war erst nach 6 wöchentlicher Dauer bei täglich mehrmals erneuertem Aetherzusatz beendet.

Das Resultat des Versuches war folgendes: Die 6 bei Beginn des Versuches getödteten Frösche (wir wollen dieselben der Kürze halber Frösche [a] nennen) hatten ein Gesammtgewicht von 252, nach Abzug des Wassergehaltes ein Gewicht von 57,065 gr. Das Aetherextract betrug 5,297 gr., davon 1,86 gr. Lecithin = 3,437 gr. Fett + Cholesterin. Das entspricht einem Fettgehalt der Gesammtthiere von 1,36 %, der wasserfreien Thiere von 6,02 %. Die mit Phosphor vergifteten Frösche (Frösche [b]) hatten am ersten Tage ein

Gesammtgewicht von 278, am dritten Tage wogen sie 260 gr., nach Abzug des Wassergehaltes 60,656. Das Aetherextract betrug 6,131, davon 1,96 gr. Lecithin = 4,171 gr. Fett + Cholesterin. Das entspricht einem Fettgehalt der Gesammtthiere von 1,6 %, der wasserfreien Thiere von 6,71 %. Die am Schluss des Versuches zugleich mit den vergifteten getödteten 6 Frösche (Frösche [c]) wogen zusammen am ersten Tage 246, am dritten 228 gr., nach Abzug des Wassergehaltes 53,163. Ihr Aetherextract betrug 5,148 gr., davon 1,9 gr. Licitin. Das entspricht einem Fettgehalt der Gesammtthiere von 1,42 %, der wasserfreien Thiere von 6,10 %.

Durch Bestimmung des Fettgehaltes der gleich zu Anfang getödteten 6 Frösche ist nach Massgabe obiger[1]) Erörterungen auch der Fettgehalt von gleichen Gewichtstheilen der übrigen 12 Frösche zu Anfang des Versuches bestimmt worden.

Die 6 vergifteten Frösche wogen zu Beginn des Versuches 278 gr. Berechnen wir hierauf die bei (a) gefundenen Werthe, so ergiebt sich, dass die 6 vergifteten Frösche bei Beginn des Versuches 63,0 feste Bestandtheile mit 3,79 gr. Fett und Cholesterin enthielten.

Die nach dreitägiger Vergiftungsdauer mit den Fröschen angestellte Untersuchung ergab, wie erwähnt, für dieselben bei einem Gesammtgewicht von 260 gr. einen Gehalt von 60,656 festen Bestandtheilen mit 4,171 gr. Fett.

Es sind also nach dreitägiger Vergiftungsdauer in den sechs Fröschen 4,171 minus 3,79 = 0,381 gr. Fett mehr vorhanden, als zur Zeit der Einverleibung des Phosphors.

Da keine Zufuhr von aussen stattfand, so muss dieses Fett im Körper der Thiere unter dem Einflusse der Phosphorintoxication sich gebildet haben. Falls auch Fett während dieser Zeit zersetzt worden ist, so würde die gebildete Fettmenge noch einen etwas grösseren Werth erhalten. Einen Anhalt zur Bestimmung der zersetzten Fettmenge können wir den bei den Fröschen (c) gefundenen Werthen entnehmen. Freilich kann die während der drei Tage zersetzte Fettmenge

---

[1]) S. 477.

nur eine sehr geringe gewesen sein, wie die bei (c) gefundenen Zahlen zeigen.

Die 6 Frösche (c) hatten bei Beginn des Versuchs ein Gesammtgewicht von 246 gr. Berechnen wir auf die bei (a) gefundenen procentischen Werthe, so ergiebt sich, dass dem zu Anfang bestehenden Gesammtgewicht von 246 gr. das Vorhandensein von 55,7 gr. festen Bestandtheilen mit 3,35 gr. Fett + Cholesterin entspricht. Da am Schluss des Versuchs dieselben 6 Frösche bei einem Gesammtgewicht von 228 gr. 53,163 gr. feste Bestandtheile mit 3,248 gr. Fett enthielten, so ergiebt sich, dass im Verlauf der drei Tage 0,102 gr. Fett der Zersetzung anheim gefallen sind.[1]) Von den 278 gr. zu Beginn des Versuchs wiegenden 6 Fröschen (b) mit 63,0 gr. festen Bestandtheilen und 3,79 gr. Fett würden also 0,119 gr. Fett zersetzt worden sein. Addiren wir diese 0,119 gr. zersetztes Fett zu dem in den Thieren gefundenen Ueberschuss von 0,381 gr., so ergiebt sich, dass 0,50 gr. oder 13,2% Fett unter dem Einfluss der Phosphorvergiftung im Thierkörper neugebildet worden sind.

Aber selbst wenn wir die beobachtete Fettzersetzung bei (c) in den Bereich der Fehlerquellen fallen lassen und auch bei den vergifteten Thieren eine Fettzersetzung ganz ausschliessen und mit Bauer annehmen, dass unter dem Einfluss der Phosphorintoxication eine verminderte oder selbst gar keine Fettzersetzung stattgefunden hat, ergiebt sich immer noch das gefundene Plus von 0,381 gr., das einer Zunahme von 10% Fett entspricht. Die gefundenen Werthe sind freilich sehr gering. Indessen ist es bei dem so äusserst geringen Stoffwechsel der Winterfrösche nicht zu verwundern, dass hier auch der Einfluss des Phosphors quantitativ unbedeutendere Umsatzalterationen herbeiführt, als bei den Warmblütern. Immerhin aber wird man genöthigt sein, die hier für Kaltblüter gefundene Thatsache einer Fettbildung auch als bei den Warmblütern bestehend anzusehen, zumal die

---

[1]) Die Versuche wurden im December ausgeführt und die Thiere während der Versuche im warmen Zimmer gehalten.

Wahrscheinlichkeit einer derartigen Umbildung schon aus den beiden oben angeführten an Warmblütern angestellten Versuchen entnommen werden musste.

Es ist hiermit also der bisher fehlende Nachweis geliefert, dass unter dem Einflusse der Phosphorintoxication eine Fettbildung auf Kosten von Bestandtheilen des Körpers stattfinden kann. Welches diese Bestandtheile sind, darüber habe ich eine Aufklärung nicht erhalten und will daher die Frage nicht weiter discutiren.

B. Fetttransport in die Leber bei Phosphorvergiftung.

Die im Vorhergehenden beschriebenen Versuche ergaben ausser dem Nachweis einer stattgefundenen Bildung von Fett noch eine weitere Thatsache, nämlich den unter dem Einfluss der Phosphorintoxication vor sich gehenden Transport von Fett in die Leber, also das Auftreten einer Fettinfiltration. Aus welchen Theilen des Körpers dieser Transport stattfindet und ob ausser der Leber noch andere Organe der Phosphorthiere eine vermehrte Zufuhr von Fett erhalten, wurde nicht untersucht.

Die Basis meiner Beweisführung bildete folgende Betrachtung:

Findet man eine Vermehrung des Fettgehaltes verbunden mit einer Zunahme des Gesammtgewichts in einem Organ und ergiebt die weitere Untersuchung, dass die Vermehrung des Gesammtgewichtes lediglich resp. zum überwiegenden Theil auf die Vermehrung des Fettgehaltes zu beziehen ist, während die übrigen Bestandtheile der Norm entsprechen oder nur wenig von ihr abweichen, so ist es höchst wahrscheinlich, dass Fett von aussen überführt ist, dass also eine Einwanderung von Fett oder fettbildenden Bestandtheilen stattgefunden hat. Da ich zu meinen Versuchen nur hungernde Thiere verwendete, so kann es sich im vorliegenden Falle nur um eine Einwanderung aus anderen Theilen des Körpers, nicht aus der Nahrung handeln.

Betrachten wir zunächst die in dem Versuch I gefundenen Zahlen. Zu diesem Versuche dienten, wie erwähnt, zwei

Meerschweinchen, von denen das eine vergiftet, das andere zugleich mit dem vergifteten am dritten Tage getödtet wurde. Das Controllthier (a) mit einem Gewicht von 210, entwässert von 65,8 gr. und 6,37 gr. Fett hatte eine Leber von 10,8 gr., entwässert 2,74 gr. Gewicht. Ihr Fettgehalt betrug 0,31 gr. = 2,86 % resp. 11,3 % der feuchten resp. trockenen Leber. Das Phosphorthier (b) mit einem Gewicht von 231, entwässert von 68,86 gr. hatte eine Leber von 13,9 gr., entwässert von 3,59 gr. Gewicht. Ihr Fettgehalt betrug 1,1 gr. = 7,91 % resp. 30,8 % der feuchten resp. trockenen Leber. Da das Verhältniss des Gewichtes der feuchten resp. trockenen Leber von (a) 5,18 % resp. 4,16 % des feuchten resp. entwässerten Gesammtthieres betrug, und die entsprechenden Werthe bei (b) 6,01 % resp. 5,21 %, so ergiebt sich, dass Leber b um 13,5 % resp. 20,0 % schwerer ist als Leber a. Es hat also ein vermehrter Transport von Material nach der Leber im Thier (b) und Ablagerung in derselben stattgefunden. Es kommt nun darauf an, zu bestimmen, welches diese Bestandtheile sind resp. ob sich unter denselben Fett befindet.

Wie wir gesehen haben, ist der Fettgehalt der Leber (b) grösser als der von (a) (30,8 % resp. 11,3 % der resp. Trockenleber) und vergleichen wir das Verhältniss des Leberfettes zum Gesammtfett der betreffenden Thiere, so sehen wir, dass das Leberfett bei (a) 4,86 %, bei (b) 8,23 % des Gesammtfettes beträgt.

Betrachten wir dagegen die nicht fetten Bestandtheile beider Lebern im Vergleich zu den Bestandtheilen der Gesammtthiere, so ergiebt sich, dass die wasserfreie Leber (a) minus Fett (2,43 gr.) 1,16 % resp. 3,69 % des gesammten feuchten resp. trockenen Thieres (a) beträgt und dass die wasserfreie Leber (b) minus Fett (2,49 gr.) einem Procentgehalt von 1,08 resp. 3,60 des gesammten feuchten resp. trockenen Thieres (b) entspricht.

Während also der Fettgehalt von Leber (b) erheblich vermehrt erscheint, ist das Verhältniss der übrigen Leberbestandtheile zu den Bestandtheilen des Gesammtthieres bei

(b) eben so gross wie bei (a). Die Vermehrung des Gewichtes der Leber des Phosphorthieres kommt also auf Kosten des Fettes, d. h. es hat eine vermehrte Einwanderung von Fett oder fettbildenden Bestandtheilen nach der Leber unter dem Einflusse des Phosphors stattgefunden.

Eine Betrachtung der Ergebnisse des Versuches II ergiebt, dass hier der gleiche Vorgang stattgefunden hat. Das Resultat dieses Versuches erscheint noch prägnanter, weil das Controllthier hierbei zu der Zeit getödtet wurde, wo dem zu vergiftenden Thiere der Phosphor einverleibt wurde. Das Phosphorthier hat also noch drei Tage länger gelebt als das Controllthier, so dass, wie auch oben gezeigt wurde, während dieser Zeit Fett zersetzt worden ist. Trotzdem war die Leber (b) erheblich grösser und zeigte einen grösseren Fettgehalt als bei dem Controllthier. Die Versuchsthiere waren hier, wie erwähnt, 2 Ratten, die nach längere Zeit dauernder gleichmässiger Ernährung 5 Tage gehungert hatten und von denen hierauf das eine (a) getödtet, dem andern (b) Phosphor einverleibt wurde.

Die Leber des Controllthieres (a), dessen Gesammtgewicht 171,7 gr., wasserfrei 54,17 gr. betrug, wog 4,5 gr., wasserfrei 1,41 gr. Dies entspricht für die feuchte resp. trockene Leber 2,62 % resp. 2,60 % des feuchten resp. trockenen Gesammtthieres. Die Leber enthielt 0,19 gr. Fett = 4,2 % resp. 13,5 % der feuchten wie der trockenen Leber.

Dagegen finden wir, dass die Leber des Phosphorthieres (b), welches 123,7 gr. und von Wasser befreit 42,1 gr. wog, ein Gewicht von 6,1 gr. und entwässert von 1,77 gr. hatte. Die Leber (b) betrug also feucht resp. trocken 4,93 % resp. 4,2 % des ganzen feuchten resp. des trockenen Thieres. Ihr Fettgehalt betrug 0,57 gr. = 9,34 % resp. 32,2 % der feuchten resp. trockenen Leber. Wir sehen also auch hier, dass die Phosphorleber erheblich an Gewicht vermehrt erscheint, dass also auch hier ein Transport in die Leber stattgefunden hat. Welche Stoffe können nun in die Leber transportirt sein? Der Fettgehalt der Leber (b) ist erheblich vermehrt, denn er

beträgt 9,34 % resp. 32,2 % der feuchten resp. trockenen Leber im Vergleich zu 4,2 % resp. 13,5 % bei Leber (a). Ferner ist das Verhältniss des Leberfettes zum Gesammtfett bei Thier (b) 17,27 %, während es bei Thier (a) nur 2,9 % beträgt. Also eine ungleichmässige Vertheilung des Fettes in Thier (b) zu Gunsten der Leber im Vergleich zu den übrigen Organen des Thieres und im Vergleich zur Leber des Controllthieres besteht zweifellos. (Das Verhältniss des Leberfettes zum Gewicht des gesammten trockenen Thieres beträgt bei (a) 0,35 %, bei (b) 2,34 %). Zum Beweis einer Fettinfiltration fehlt also nur noch der Nachweis, dass nicht etwa die übrigen Leberbestandtheile derart vermehrt sind, dass hierdurch allein die Vermehrung des Lebergewichtes erklärt wird und der vermehrte Fettgehalt etwa allein darauf zurückzuführen wäre, dass dasselbe aus fettfreiem Lebermaterial an Ort und Stelle gebildet sei.

Vergleichen wir nun die fettfreien Bestandtheile der Leber (a) = 1,22 gr. mit dem Gesammtthier resp. seinem Trockenrückstand, so finden wir, dass dieselben 0,71 % resp. 2,25 % betragen. Die entsprechenden Werthe bei (b) sind 1.20 gr. = 0,97 % resp. 2,85 %. Es sind also in der That auch die fettfreien Bestandtheile der Phosphorleber etwas vermehrt, indessen verschwinden diese geringen Werthe im Vergleich zu den oben erwähnten und genügen nicht, um die Vermehrung des Lebergewichtes bei (b) zu erklären.

Demnach haben wir es, ausser der oben bewiesenen Neubildung von Fett, zu thun mit einem Transport von Fett in die Leber, mit einer Fettinfiltration, die in diesem Falle zugleich verbunden ist mit einem freilich geringen Transport von fettfreiem Material in dieselbe. Dieses Resultat ist besonders deutlich erkennbar bei folgender einfacher Betrachtung: Der Fettgehalt der Leber hat unter dem Einflusse der Phosphorvergiftung beträchtlich zugenommen, der der übrigen Organe abgenommen. Wir werden hier also zu der Annahme gedrängt, dass nicht etwa bloss eine Einwanderung von fettbildendem Material, sondern eine Infiltration von Fett selbst aus den übrigen Organen in die Leber stattgefunden hat.

Mit der Behauptung dieser Thatsache, dass eine Fettinfiltration in die Leber als Folge von Phosphorintoxication entsteht, befinde ich mich im Gegensatz zu Bauer[1]), der, wie erwähnt, freilich ohne einen Beweis dafür anzugeben, behauptet, es finde eine Fettinfiltration bei Phosphorvergiftung nicht statt. Perls[2]) glaubt dagegen den Nachweis geliefert zu haben, dass Fettinfiltration im Gefolge von Phosphorvergiftung entsteht. Er gründet aber seine Deduction auf eine Hypothese, die, wie oben ausgeführt, nicht unanfechtbar ist, indem er behauptet, Fettinfiltration müsse mit Abnahme des Wassergehaltes des betreffenden Organes einhergehen. In den von mir angestellten Versuchen nun, wo zweifellos Fettinfiltration besteht, kann man von einer Abnahme des Wassergehaltes nicht sprechen, denn bei Versuch I betrug der Wassergehalt in der Phosphorleber 74,1% und in der Controllleber 74,6% des ganzen Organs, bei Versuch II der Wassergehalt in der Phosphorleber 70,99% und in der Controllleber 68,67% des ganzen Organs,

Ob Fettbildung und Fetttransport bei Phosphorintoxication stets gemeinsam auftreten, oder ob je nach der Intensität der eingetretenen Vergiftung der eine oder der andere Process allein auftritt oder prävalirt, wage ich nicht zu entscheiden.

C. Einige Bemerkungen über das physiologische Verhalten des Lecithins.

Ausser den angeführten Thatsachen ergeben meine Versuche noch einige Aufschlüsse über das Verhalten des Lecithins bei den geschilderten Vorgängen, die zugleich ein Licht auf die allgemeinen physiologischen Verhältnisse dieses Körpers werfen.

Es zeigte sich nämlich, dass die Veränderungen, denen das Lecithin unterworfen ist, nur ganz minimale sein können, indem die Differenzen, welche der Lecithingehalt der verschiedenen Versuchsthiere zeigte, in das Bereich der Versuchsfehler fallen.

---

1) Zeitschrift für Biologie, Bd. VII, S. 79.

2) Centralblatt für medicinische Wissenschaft, 1873, S. 801.

In Versuch I, wo das Controllthier zugleich mit dem Phosphorthier getödtet wurde, enthielt das 6,37 gr. betragende Aetherextract des Controllthieres (a), welches 210 gr., trocken 65,8 gr. wog, 2,06 gr. Lecithin = 32,34 %. Berechnen wir den Lecithingehalt auf das ganze Thier, so ergiebt sich 3,13 % resp. 0,98 % des trockenen resp. des feuchten Thieres. Der Lecithingehalt in dem 13,37 gr. betragenden Aetherextract des Versuchsthieres (b), welches 231 resp. 68,86 gr. wog, stellte sich zu 2,06 gr. heraus = 15,40 %. Auf das ganze Thier berechnet, enthält dasselbe 3,0 % resp. 0,90 % Lecithin des trockenen resp. des feuchten Thieres.

In Versuch II, wo das Controllthier (a) vor der Intoxication des Versuchsthieres (b) getödtet wurde, ergab die Untersuchung des 6,55 gr. betragenden Aetherextractes des Controllthieres, welches ein Gewicht von 171,7 resp. 54,17 gr. hatte, einen Lecithingehalt von 2,04 gr. = 31,14 %. Das Gesammtthier enthielt also 3,76 % resp. 1,18 %, auf das feuchte resp. das trockene Thier berechnet. Im Vergleich hierzu fanden sich in dem 3,3 gr. betragenden Aetherextract des Versuchsthieres (b), dessen Gewicht 123,7 resp. 42,1 gr. betrug, 1,35 gr. Lecithin = 40,91 %. Berechnen wir diesen Werth auf das ganze Thier, so zeigt sich in demselben ein Procentgehalt von 3,2 % resp. 1,09 % Lecithin des trockenen resp. des wasserhaltigen Thieres.

In Versuch III, wo 3 Gruppen von je 6 Fröschen untersucht wurden, betrug der Lecithingehalt im 5,297 gr. wiegenden Aetherextract der Gruppe (a), welche bei Beginn des Versuches getödtet wurde und ein Gesammtgewicht von 252 resp. 57,065 gr. hatte, 1,86 gr. = 35,1 %. Die ganzen Thiere hatten also einen Gehalt von 3,26 % resp. 0,74 % Lecithin, auf die feuchten resp. trockenen Thiere bezogen.

Die mit Phosphor vergiftete Gruppe (b), welche nach Ablauf des Versuches 260 resp. 60,656 gr. wog, hatte in dem 6,131 gr. betragenden Aetherextrakt 1,96 gr. Lecithin = 32,0 %. Die 6 Thiere zusammen besassen also 3,23 % resp. 0,75 % Lecithin. Im 5,148 gr. wiegenden Aetherextract der Gruppe (c), die zugleich mit (b) getödtet wurde und zu

dieser Zeit ein Gesammtgewicht von 228 resp. 53,163 gr. hatte, fanden sich 1,9 gr. Lecithin, entsprechend 36,0%. Dies ergiebt für die ganze Gruppe einen Lecithingehalt von 3,57% resp. 0,75% der trockenen resp. feuchten Thiere.

Vergleichen wir die bei Beginn des Versuches in den Thieren vorhandenen Mengen von Lecithin mit den am Schlusse gefundenen Werthen, so ergiebt sich:

Vor Beginn des Versuches hatten die 6 Frösche (b) zusammen bei einem Gesammtgewicht von 278 gr., wie sich durch Berechnung aus den bei (a) gefundenen Zahlen ergiebt, einen Gehalt von 2,05 gr. Lecithin. Der nach Ablauf des Versuches in denselben als vorhanden gefundene Werth von 1,96 gr. unterscheidet sich von dem Anfangswerth nur um 0,09 gr. Die 6 Frösche (c) hatten bei Beginn des Versuches insgesammt einen Lecithingehalt von 1,82 gr. Am Schlusse des Versuches fanden sich in denselben 1,9 gr. Die Differenz beträgt also nur 0,08 gr.[1])

Wir sind also auf Grund dieser Ergebnisse zu folgendem Schlusse berechtigt:

Das Lecithin bleibt bei Thieren, die sich im Inanitionszustande befinden, innerhalb der Grenzen der angeführten Versuche, unberührt von den Umwandlungsprocessen, die sich im Thierkörper abspielen.

Dieser Befund beansprucht desshalb besonderes Interesse, weil das Lecithin seiner Constitution nach den Fetten sehr nahe steht, so dass verschiedentlich und mit Recht der Meinung Ausdruck gegeben wurde, dasselbe stelle eine Stufe in der Fettbildung dar. Das von mir aufgefundene Resultat, welches besagt, dass das Lecithin von den Stoffwechselvorgängen im hungernden und im mit Phosphor vergifteten Organismus unbeeinflusst bleibt, macht die Möglichkeit eines derartigen Zusammenhanges, wenigstens für den Thierkörper, unwahrscheinlich.

---

[1]) Diese Uebereinstimmung beweist zugleich, dass die zum Versuch benutzten Thiergruppen hinsichtlich ihres Körperzustandes auch zu den vorhergehenden vergleichenden Versuchen vorzüglich geeignet waren.

Fassen wir die Resultate der vorliegenden A
sammen, so ergiebt sich:

1. es wurde gezeigt, dass unter dem Einflusse d
phorintoxication eine Bildung von Fett stattfinden k

2. ergab sich, dass hierbei ausserdem ein T
und Ablagerung von Fett in die Leber, Fettinfiltrat
selben, stattfindet;

3. zeigte es sich, dass das Lecithin von den
Phosphorvergiftung und auch sonst im hungernde
körper sich abspielenden Umsetzungsvorgängen unbe
bleibt.

Zum Schlusse gestatte ich mir, Herrn Dr. Koss
Vorsteher der chemischen Abtheilung des hiesigen
logischen Instituts, woselbst ich die hier beschrieben
suche angestellt habe, meinen verbindlichsten Dank
sprechen.

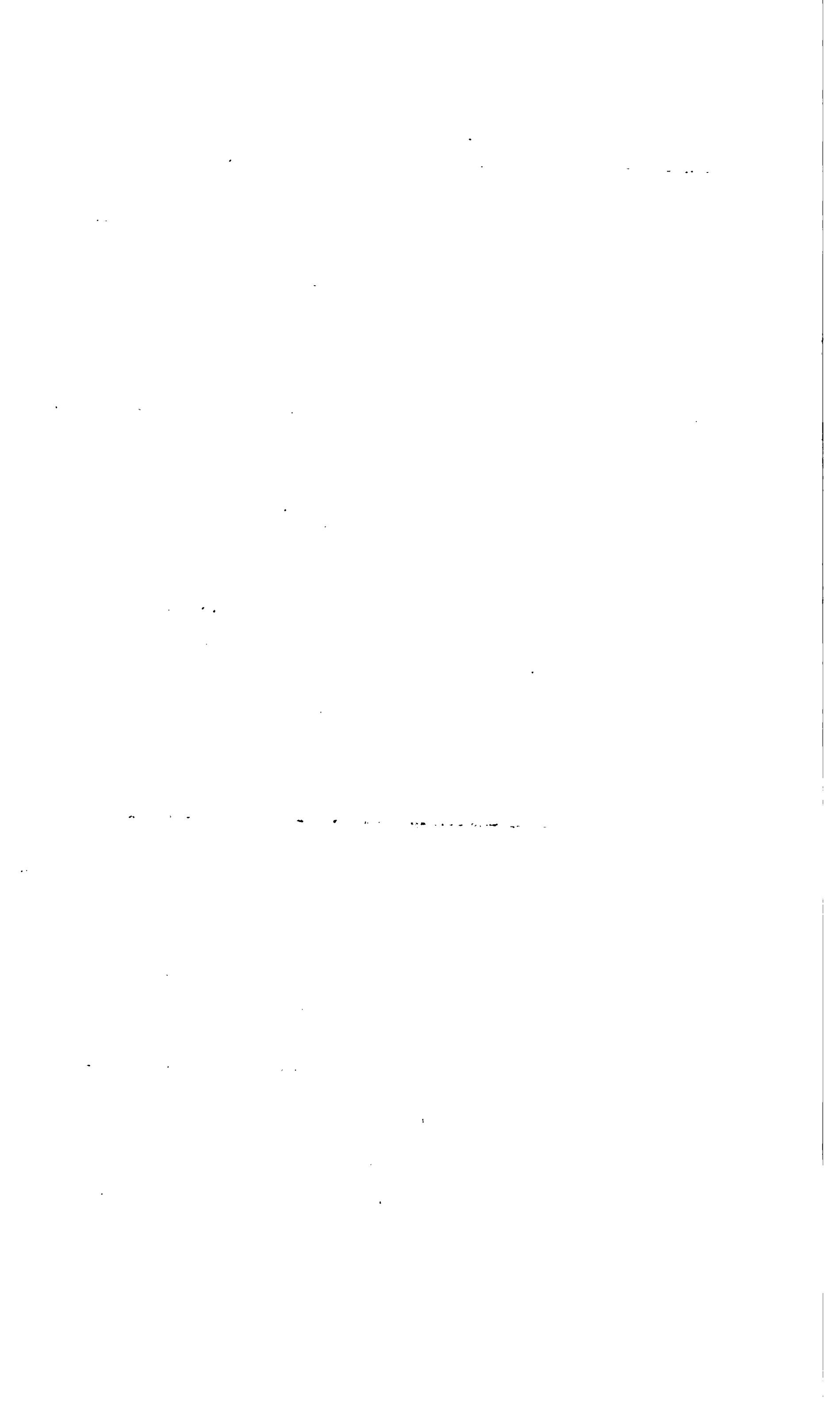
Die Versuchsresultate sind in den beiden fo
Tabellen zusammengestellt.

L e b e r.

Aetherextract der Leber. Procent der feuchten Leber.	Procent der trockenen Leber.	Procent des ganzen Aetherextractes.	Procent des ganzen trockenen Thieres.	Feste Bestandtheile der Leber minus Aetherextract. in gr.	Procent des ganzen Thieres. des feuchten.	Procent des ganzen Thieres. des trockenen.
t.						
2,86%	11,3%	4,86%	0,47%	2,43	1,16%	3,69%
7,91%	30,8%	8,23%	1,6 %	2,49	1,08%	3,60%
e später getödtet.						
4,2 %	13,5%	2,9 %	0,35%	1,22	0,71%	2,25%
9,34%	32,2%	17,27%	1,34%	1,20	0,97%	2,85%

L e c i t h i n.

Procent Thiers. r trockenen.	Procent des Aetherextractes.	Anfangsgehalt an Lecithin aus (a) berechnet.	Differenz am Schlusse des Versuches.
ich mit (b) am dritten Tag getödtet.			
3,26%	35,1%	—	—
3,23%	33,0%	2,05	— 0,09
3,57%	36,9%	1,82	+ 0,08



Zur Kenntniss der Eiweissfäulniss III: Ueber die Bildung der nicht hydroxylirten aromatischen Säuren.

Von

E. Salkowski in Berlin.

(Der Redaction zugegangen am 2. April 1885.)

I. Die Abscheidung der flüchtigen aromatischen Säuren.[1]

Bereits vor einer Reihe von Jahren haben wir mitgetheilt[2], dass bei der Fäulniss verschiedener Eiweisskörper sich constant flüchtige aromatische Säuren bilden, von denen zwei, nämlich die Phenylessigsäure und die Phenylpropionsäure (Hydrozimmtsäure) bestimmt erkannt werden konnten. Die Methode, deren wir uns damals zur Isolirung der Säuren aus dem Fäulnissgemisch bedienten und die wir auch in den späteren Versuchen befolgten, ist bereits in der Abhandlung über die Skatolcarbonsäure[3]) und zwar in dem daselbst gegebenen Schema über die Verarbeitung des Destillationsrückstandes (l. c. S. 10) angedeutet, wir haben demselben nur Weniges zur Erläuterung hinzuzufügen.

Die Hauptmenge der flüchtigen aromatischen Säuren findet sich in dem Aetherauszug Bb 1β (siehe das Schema l. c.), ein geringer Bruchtheil geht jedoch bei der ersten Destillation der nicht angesäuerten Faulflüssigkeit, vermuthlich als Ammonsalz, in das erste Destillat über. Wie dieses Destillat behandelt wurde, um daraus das Indol resp. Skatol zu isoliren, ist bereits in der Abhandlung über die Bildung des Indols

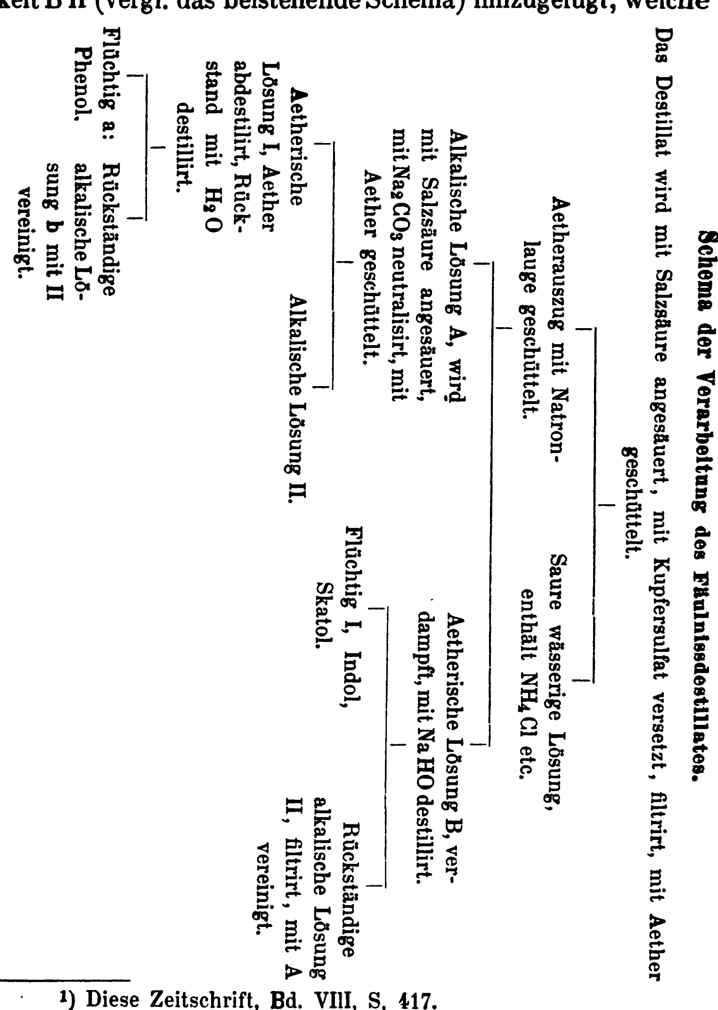
---

[1]) Abschnitt I und II nach gemeinsamen Versuchen mit meinem Bruder H. Salkowski in Münster i. W.

[2]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XII, S. 107, S. 648, Bd, XIII, S. 189. Vergl. auch diese Zeitschrift, Bd. II, S. 424.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 8.

und Skatols[1]) besprochen. Es ist dort (l. c. S. 428) angegeben, dass die aus dem angesäuerten wässerigen Destillat hergestellte ätherische Lösung durch Schütteln mit Natronlauge von Phenol resp. Kresol und flüchtigen Säuren befreit wurde. Es handelt sich hier somit um die Trennung der in gemeinsamer alkalischer Lösung befindlichen Säuren und des Phenols. Zu dieser Natronlösung wurde zunächst noch die alkalische Flüssigkeit B II (vergl. das beistehende Schema) hinzugefügt, welche bei



[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 417.

dem definitiven Abdestilliren des Indols geblieben war, nachdem sie vorher durch Filtriren geklärt war[1]); dieselbe enthielt in der Regel kein Phenol, oft aber noch Spuren von flüchtigen Säuren. Um aus dieser vereinigten alkalischen Lösung das Phenol zu entfernen, wurde in der Regel Salzsäure hinzugefügt bis zur stark sauren Reaction, wobei die Lösung sich unter Ausscheidung öliger Tropfen trübte, dann Natriumcarbonat, bis die Lösung nach starkem Schütteln nur von freier CO_2 sauer reagirte, alsdann wiederholt mit Aether geschüttelt, welcher das Phenol aufnimmt. Man ist dabei sicher, dass der Aether alles Phenol aufnimmt: das in der Flüssigkeit vorhandene Natriumbicarbonat bindet in der Kälte kein Phenol. Dagegen nimmt der Aether allerdings auch Spuren von Natriumsalzen flüchtiger Säuren auf. Diese bleiben zurück, wenn die Aetherlösung bei gelinder Wärme verdunstet und das Phenol durch Wasserdampf abgetrieben wird. Die rückständige alkalische Flüssigkeit A Ia wird wieder zu der Hauptmenge zugesetzt und die gesammten in Alkali gelösten Säuren dann mit der bei der Verarbeitung des Destillationsrückstandes unter B (vergl. das Schema Bd. IX, S. 10) erhaltenen Lösung resp. dem Verdampfungsrückstand derselben vereinigt, so dass also auch die in das erste Destillat übergegangenen Fette und aromatischen Säuren in den Aetherauszug B I b 1β gelangten.[2])

Der beim Abdestilliren dieses Aetherauszuges bleibende ölige Rückstand, welcher also flüchtige Säuren, Oxysäuren, Skatolcarbonsäure und Bernsteinsäure enthielt, wurde anhaltend mit einem starken Dampfstrom behandelt, welcher vorher ein gelinde erhitztes Kupferrohr passirte. Zu stark darf man dieses nicht erhitzen, da sonst die Skatolcarbonsäure zu einem beträchtlichen Theil verharzt. In der Regel

---

1) War diese Flüssigkeit durch Filtriren allein nicht vollständig zu klären, so wurde die Klärung durch Zusatz einer kleinen Quantität Chlorbaryum und etwas Natriumcarbonat bewirkt.

2) In den älteren Versuchen sind die in das erste Destillat übergegangenen Säuren nicht immer berücksichtigt. — Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 10.

wurden die Dämpfe dann direkt in Natronlauge geleitet, welche sich natürlich stark erhitzt. Man thut gut, am Anfang den Dampfstrom nicht zu stark zu wählen, da sonst zuviel von den Säuren unabsorbirt entweicht. Ganz verhüten lässt sich der Verlust nicht, indessen handelt es sich dabei vorwiegend um flüchtige fette Säuren, während die aromatischen hauptsächlich später übergehen. Dagegen erleidet man unvermeidlich einen schwer zu bemessenden Verlust an aromatischen Säuren durch die stets in gewisser Menge gebildeten Hydrozimmtsäure- resp. Phenylessigsäureäther, die sich durch ihren Geruch in unverkennbarer Weise bemerklich machen. Sie bilden sich um so reichlicher, je länger die Säuren in ätherischer, alkoholhaltiger Lösung verweilen, möglichste Beschleunigung der Proceduren ist daher zur Vermeidung grösserer Verluste erforderlich. Für die Bemessung der vorzulegenden Quantität Natronlauge giebt die vorhergehende Verarbeitung des Destillationsrückstandes hinreichenden Anhalt: man wird etwa dieselbe Quantität vorzulegen haben, welche man zur Alkalisirung des Aetherauszuges B I gebraucht hat resp. etwas mehr. Es braucht kaum bemerkt zu werden, dass der das Säuregemisch enthaltende Kolben durch eine kleine Flamme erhitzt wird, wenn die Quantität der Flüssigkeit durch Condensirung von Wasserdampf zu gross geworden ist.

Die vollständige Austreibung der flüchtigen Säuren nimmt eine recht geraume Zeit in Anspruch, und doch ist auf eine möglichst vollständige Austreibung Werth zu legen, nicht allein, weil sonst ein Verlust an flüchtigen Säuren eintreten würde, sondern auch, weil die nicht flüchtigen Säuren viel leichter rein darzustellen sind, wenn die flüchtigen Säuren möglichst sorgfältig entfernt wurden. Im Allgemeinen waren hiezu (bei rund 400 gr. trockenem Eiweiss als Fäulnissmaterial) 24 bis 36 Stunden erforderlich. Als Kriterium diente das Verhalten einer zur Probe vorgelegten sehr schwach alkalischen Flüssigkeit (1 bis 2 cbcm. $^1/_{10}$ Normalnatron enthaltend): war diese nach einer Stunde noch alkalisch, so wurde die Destillation als beendet angesehen.

Die gesammten alkalischen mit Säuren beladenen Lösungen wurden nun auf dem Wasserbad eingedampft, nach dem Erkalten mit Salzsäure stark angesäuert[1]) und mit Aether ausgeschüttelt. Der beim Verdunsten der Aetherauszüge bleibende Rückstand wurde aus einem Siedekölbchen mit eingesetztem Thermometer destillirt. Da der Siedepunkt der Phenylessigsäure bei 262° liegt, der Siedepunkt der Phenylpropionsäure (Hydrozimmtsäure) gegen 280°, der Siedepunkt der unter den Fäulnissproducten aufgefundenen flüchtigen Fettsäuren, welche hier in Betracht kommen, weit tiefer (die normale Valeriansäure siedet bei 184—185°, die Isovaleriansäure bei 176°, die normale Capronsäure bei 205°; die Palmitinsäure und Stearinsäure kommen nicht in Betracht, da ihre Baryumsalze in Wasser unlöslich sind), so ist eine Trennung durch fractionirte Destillation sehr wohl ausführbar. In der Regel wurde die Vorlage gewechselt, wenn der Siedepunkt auf 260° gestiegen war. Natürlich setzt dieses Verfahren eine nicht zu kleine Menge Material voraus und dieses ist mit ein Grund, warum fast alle unsere Fäulnissversuche mit verhältnissmässig sehr grossen Mengen Eiweisssubstanz ausgeführt sind. Die Destillation wurde bis auf wenige im Fractionskölbchen bleibende Tropfen fortgesetzt. Für die Reindarstellung der Säuren ist es übrigens zweckmässiger, die Destillation nicht bis auf die letzten Tropfen fortzusetzen: es entstehen dabei gelb gefärbte stechend riechende Producte, welche das Auskrystallisiren der Säure zu erschweren scheinen.

Durch das geschilderte Verfahren wurde also ein öliges Liquidum erhalten, durchschnittlich im Gewicht von 5 bis 6 gr. (aus rund 400 gr. Eiweiss), das nun an einem kühlen Ort sich selbst überlassen wurde. Dabei erstarrte es entweder dem grössten Theile nach oder es entstand eine geringe krystallinische Ausscheidung. Im ersteren Falle wurde die Krystallmasse zwischen Papier stark abgepresst oder auch auf Thonplatten abgesogen, im letzteren Falle auf Thon-

[1]) Zur Erkennung der Gegenwart freier Mineralsäure diente die Reaction einiger Tropfen der Flüssigkeit mit Gentianaviolet nach dem ersten Ausschütteln mit Aether.

platten ausgegossen, wobei sich der flüssige Antheil schnell einzog und die Krystalle rein zurückblieben. Die so erhaltene Substanz diente direct oder nach Umkrystallisiren aus Wasser, öfters auch nach Sublimation zwischen Uhrgläsern zu Schmelzpunktbestimmungen und Analysen.

So wurde aus 125 gr. mit Wasser erschöpftem trockenen Muskelfleischpulver bei 13tägiger Fäulniss 0,7 gr. reine Hydrozimmtsäure erhalten.[1]) Die Säure schmolz bei 47—48° (Schmelzpunkt der Hydrozimmtsäure 48°), lieferte bei Oxydation mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat Benzoësäure, beim Nitriren eine nach einmaligem Umkrystallisiren aus Wasser bei 161° schmelzende Nitrosäure (Paranitrohydrozimmtsäure schmilzt bei 163—164°).

0,2065 gr. der Säure (über SO_4H_2 getrocknet) gaben 0,5430 CO_2 und 0,1266 H_2O.

	Berechnet:	Gefunden:
C	72,0 %	71,71 %
H	6,67 »	6,81 »

0,1527 gr. des Silbersalzes gaben 0,0635 gr. Ag = 41,58 % (ber. 42,02 %).

Phenylessigsäure aus verschiedenen Versuchen stammend, ergab folgende analytische Werthe:

0,2066 gr. (über SO_4H_2 getrocknet) gaben 0,5350 CO_2 und 0,1168 H_2O.

	Berechnet:	Gefunden:
C	70,58 %	70,62 %
H	5,88 »	6,17 »

0,3788 gr. des Silbersalzes gaben 0,1498 gr. Ag = 44,21 % (ber. 44,44 %).

Eine Bestätigung liegt nur von Stöckly[2]) vor, der unter Nencki's Leitung aus faulendem Gehirn reichlich Hydrozimmtsäure erhielt: aus 5 Kilo 20 gr. reine Säure.

Die näheren Verhältnisse über das Auftreten der einen oder anderen Säure werden weiter unten erörtert werden.

II. Die Constanz des Auftretens der Säuren.

Der Umstand, dass die aus dem öligen Destillat auskrystallisirten Säuren stets sehr annähernd den Schmelzpunkt der Hydrozimmtsäure oder den der Phenylessigsäure zeigten, bewog uns Anfangs zu der Annahme, dass, der Regel

---

[1]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XII, S. 107.

[2]) Journal für practische Chemie, N. F., Bd. 24, S. 17.

nach, in einer Fäulnissmischung nur eine der beiden Säuren vorhanden sei. Die geringen Abweichungen, welche die Schmelzpunkte häufig nach unten hin zeigten, liessen sich ungezwungen auf Verunreinigungen beziehen, welche die Schmelzpunkte herabdrückten. Dagegen konnte uns nicht entgehen, dass die Quantität der in fester Form erhaltenen aromatischen Säuren eine sehr wechselnde war; ebensowenig konnte es uns entgehen, dass die Presspapiere resp. die Thonplatten noch beträchtliche Mengen von Homologen der Benzoësaure enthielten, wie einfache Reactionen mit den aus diesen hergestellten Auszügen (z. B. die Lücke'sche, auf Nitrobenzol-Bildung beruhende Reaction) ergaben. Auch dieser Umstand erschien indessen nicht unerklärlich; es war sehr wohl denkbar, dass sich bei der Fäulniss noch höhere Homologe der Benzoësäure (Phenylbuttersäure, Phenylvaleriansäure etc.) bildeten, deren Schmelzpunkte tiefer, wie der der Phenylpropionsäure liegen. Dieselbe Erklärung würde dann auch zulässig sein für die Fälle, in denen die Destillate überhaupt keine krystallinischen Ausscheidungen lieferten, sondern auch bei längerer Aufbewahrung ölförmig blieben, resp. die krystallinische Ausscheidung minimal war.

Inzwischen wurden indessen doch Beobachtungen gemacht, welche Zweifel an der Richtigkeit dieser Deutungen erweckten. Zunächst wurde bei einem Fäulnissversuch mit 2 Kilo Fleisch von 7tägiger Dauer (Nr. 8 in der Tabelle diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 432), der wesentlich Hydrozimmtsäure lieferte, in der Gruppe der Oxysäuren[1]) noch eine nicht unbeträchtliche Quantität — 0,862 gr. — Phenylessigsäure gefunden.

Weitere Anhaltspunkte lieferten die Versuche von H. Salkowski[2]) über das Verhalten der Mischungen von Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure. Es zeigte sich hierbei zunächst, dass aus diesen Gemischen, noch wenn sie aus 60%

[1]) In Folge von unzureichender Behandlung mit Wasserdampf an dieser Stelle.

[2]) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVIII, S. 323.

Hydrozimmtsäure und 40% Phenylessigsäure bestanden, bei bei etwas kühler Zimmertemperatur eine Säure vom annähernden Schmelzpunkt der Phenylessigsäure (76°) auskrystallisirte, während ein grosser Theil flüssig blieb; fernerhin dass aus Gemischen von 80% Hydrozimmtsäure und 20% Phenylessigsäure sich reine Hydrozimmtsäure vom richtigen Schmelzpunkt krystallinisch ausschied, während ein grosser Theil der Hydrozimmtsäure im Gemisch mit Phenylessigsäure flüssig blieb. Endlich constatirte H. Salkowski noch, dass ein Gemisch von 35% Hydrozimmtsäure und 65% Phenylessigsäure, direct untersucht — ohne vorgängige Abscheidung einer Säure durch Krystallisation — schon bei 21° schmolz. Nach diesen Beobachtungen konnten die früheren Anschauungen nicht mehr aufrecht erhalten werden. Die Bestimmung des Schmelzpunktes einer auskrystallisirten Säure berechtigte danach nicht mehr, nur diese Säure anzunehmen, ebenso konnten die früher ausgeführten Gewichtsbestimmungen der auskrystallisirten und abgepressten Säure keinen Werth mehr beanspruchen, da bei ihnen ein unberechenbarer, sicher oft sehr grosser Bruchtheil der Wägung entgangen war. Endlich war auch für die allerdings seltenen Fälle, in denen das Destillat ganz oder, abgesehen von einer geringen Ausscheidung, flüssig blieb, eine befriedigende Erklärung gewonnen. Die älteren Versuche haben also nur noch insofern Werth, als sie Beweise abgeben für die Constanz der Bildung aromatischer nicht hydroxylirter Säuren und allenfalls für das Ueberwiegen der einen oder anderen Säure. Nur aus diesem Grunde sollen sie hier summarisch angeführt werden.

Bildung von Hydrozimmtsäure wurde constatirt:

1. In 9 Versuchen mit Fleisch von 2 bis 16 Tagen Dauer (wozu noch ein bei gewöhnlicher Temperatur angestellter Versuch kommt).
2. In 2 Versuchen mit Blutfibrin von 3 resp. 7 Tagen Dauer.
3. In einem Versuch mit Fleischfibrin von 13 Tagen Dauer.
4. In einem Versuch mit Pankreaspepton von 7 Tagen Dauer.

Bildung von Phenylessigsäure wurde festgestellt:

1. In 3 Versuchen mit Serumalbumin von 37—39 Tagen Dauer.
2. In 2 Versuchen mit Fleisch von 7 resp. 14 Tagen Dauer. — Hierzu kommt noch der erwähnte Versuch Nr. 8 mit Fleisch, in dem beide Säuren neben einander gefunden wurden.

Ich hebe dabei nochmals hervor, dass, wo nur eine Säure gefunden, die andere keineswegs ausgeschlossen ist.

Im Ganzen wurde also in 20 Einzelversuchen mit grösseren Quantitäten verschiedener Eiweisskörper die Bildung von flüchtigen aromatischen Säuren constatirt, in keinem darauf untersuchten Fall vermisst.

Dazu kommen noch die neueren Versuche, an Zahl 10, grösstentheils das Fibrin betreffend, über welche hier genauer berichtet werden soll. Alles in Allem ist also in 30 Versuchen mit verschiedenem Material die eine oder die andere Säure gefunden, so dass wir wohl auf keinen Widerspruch stossen werden, wenn wir den Satz aufstellen:

Nicht hydroxylirte aromatische Säuren und zwar Homologe der Benzoësäure sind ein constantes Product der Eiweissfäulniss.

III. Die Trennung der Säuren und ihre Mengenverhältnisse.

Die Frage nach der Quantität der aus dem Eiweiss durch Fäulniss gebildeten aromatischen Säuren bietet nicht weniger physiologisches, wie chemisches Interesse. Ist auf der einen Seite die genaue Feststellung der Mengenverhältnisse ein nicht unwichtiger Beitrag zur Kenntniss der Constitution des Eiweiss, so liefert andererseits die Beantwortung dieser Frage die Unterlagen für unsere Anschauungen über die Entstehung eines höchst interessanten Stoffwechselproductes namentlich der Pflanzenfresser, der Hippursäure. Ich habe daher dieser Frage ein besonders eingehendes Studium zugewendet.

Man konnte daran denken, das über 260° übergehende Destillat zu wägen und als Summe von Phenylessigsäure und

Hydrozimmtsäure anzusehen. Allein einerseits ist der Nachweis, dass dieses Destillat in der That aus nichts Anderem wie den genannten Säuren besteht, sehr schwer zu führen, andererseits ist man auch nicht sicher, alle aromatische Säure wirklich in dem Destillat zu haben. Man kann sich leicht überzeugen, dass schon von etwa 200° ab, wenn auch vielleicht nur sehr kleine Quantitäten der Säuren übergehen, und es ist auch nicht gut ausführbar, die Säuren bis auf den letzten Tropfen abzudestilliren. Auch im besten Falle würde man dadurch nur die Gesammtmenge der Säuren erfahren. Die Trennung derselben ist, wie die Versuche von H. Salkowski ergeben haben, nach dem von Liebig für die Trennung der flüchtigen Fettsäure angegebenen Verfahren zwar ausführbar, aber sehr umständlich und natürlich nicht quantitativ.

Bei dieser Sachlage kam ich auf die Idee, den thierischen Organismus zur Ueberführung der Säuren in eine quantitativ leicht bestimmbare Form und zur Trennung der beiden Säuren zu benutzen.

Frühere Versuche von uns[1]) hatten ergeben, dass bei Kaninchen eingegebene Hydrozimmtsäure fast quantitativ als Hippursäure, Phenylessigsäure dagegen als Phenacetursäure ausgeschieden wird. Verfüttert man also die aromatischen Säuren, so werden dieselben: 1. in äusserst leicht krystallisirbare schwerlösliche Verbindungen übergeführt, deren Menge sich sowohl direct, als auch indirect mit Leichtigkeit und ziemlich genau bestimmen lässt, und es ist 2. möglich, die entstandenen Säuren zu trennen, ja selbst die Phenacetursäure annähernd der Menge nach zu bestimmen.

Das eingehaltene Verfahren gestaltete sich nach einigen Vorversuchen folgendermassen:

Das durch Abdestilliren des Aethers erhaltene Gemisch flüchtiger fetter und aromatischer Säuren wurde der Destillaton unterworfen, dieselbe bei 200° unterbrochen. Der Rückstand mit Aetznatron schwach alkalisirt, zur Entfernung flüchtiger, nicht saurer Producte auf dem Wasserbad zur Trockne gedampft, dann wiederum in wenig Wasser gelöst, die

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 161.

meistens etwas trübe Lösung mit Salzsäure genau neutralisirt, einige Tropfen Natriumcarbonat hinzugesetzt, auf 100 cbcm. aufgefüllt. Die Lösung wurde in zwei gleiche Theile getheilt, die eine Hälfte diente zum Fütterungsversuch, die andere zur Darstellung der Säure.

Der Fütterungsversuch war in folgender Weise angeordnet:

Das zu dem Versuch ausgewählte Kaninchen von 2 bis 3 Kilo Körpergewicht erhielt einige Tage Kartoffeln als ausschliessliche Nahrung — und zwar in den Tagen vor der Fütterung der Säuren nur 60 bis 80 gr., da während der Fütterung mit Säuren selbst dieses geringe Quantum nicht verzehrt wurde — und 40 cbcm. Wasser pro Tag mittelst Catheter in den Magen. Die Harnentleerung wurde durch Abpressen befördert. An den drei folgenden Tagen wurde dem Thiere jedesmal $^1/_3$ der oben erwähnten neutralen Säurelösung zu 40 cbcm. verdünnt eingegeben. Der Harn floss unmittelbar nach der Entleerung in ein Gefäss mit absolutem Alkohol, eine Vorsicht, die nach den Erfahrungen von Stokvis und v. d. Velde[1]) über die leichte Zersetzlichkeit der Hippursäure im Harn geboten erschien. Dic Harnreste wurden selbstverständlich öfters abgespült; es gelang so in der That, die Zersetzung des Harns zu verhüten. Der gesammte, in den nächsten 4 $\times$ 24 Stunden gelassene, in Alkohol aufgesammelte Harn wurde eingedampft, in Alkohol aufgenommen, der Rückstand sehr sorgfältig mit Alkohol nachgewaschen, die Auszüge bei gelinder Temperatur verdunstet, dann in Wasser gelöst und auf 100 cbcm. gebracht. Von dieser Lösung dienten 10 cbcm., oder wenn die Bestimmung, was häufig geschah, doppelt ausgeführt wurde, 2 $\times$ 10 cbcm. zur Herstellung des Aetherauszuges und Bestimmung des Stickstoffes in diesem. Der Rest = 80 cbcm., der bis zur Beendigung der N-Bestimmung kühl aufbewahrt wurde, diente zur Darstellung der Hippursäure und Untersuchung auf Phenacetursäure.

Die Herstellung des Aetherextractes und Bestimmung des Stickstoffes in diesem geschah in folgender Weise:

Die mit der Messpipette abgemessenen 10 cbcm. des obigen Auszuges wurden auf etwa 30 cbcm. verdünnt, dann stark mit Salzsäure angesäuert und sofort mit 60 cbcm. Aether unter Zusatz von 2 bis 3 Tropfen Alkohol geschüttelt. Die Ausschüttelung wurde noch 3 Mal in derselben Weise wiederholt, die durch Papier filtrirten Aetherauszüge bis auf einen geringen Rest abdestillirt. Die rückständige Lösung — etwa ausgeschiedene Hippursäure wurde vorher durch Zusatz von Alkohol in Lösung gebracht — wurde auf 80° warmen (vorher natürlich gut ausgeglühten) Natronkalk aufgetropft, der sich in einem Schälchen be-

[1]) Archiv für experimentale Pathologie, Bd. XVII, S. 189.

fand. Diese Procedur nimmt ziemlich viel Zeit in Anspruch, es lässt sich auch, da man das Kölbchen mit einem Gemisch von Aether und Alkohol ausspülen muss, nicht vermeiden, dass der Natronkalk etwas feucht wird, doch ist eine Zersetzung von Hippursäure resp. abgespaltenem Glycocoll beim Trocknen des Natronkalkes bei 80° nicht zu befürchten, eine Zersetzung von etwa in den Aether übergegangenem Harnstoff aber eher von Vortheil. Diejenigen Stellen des Schälchens, welche direct mit der Aetherlösung in Berührung gekommen waren, wurden mit leicht angefeuchtetem Fliesspapier ausgewischt, die Papierstückchen bei der Stickstoffbestimmung, die mit Natronkalk in der Röhre ausgeführt wurde, direct in die Röhre geworfen und mit Natronkalk geschüttelt. Das Ammoniak wird in Salzsäure aufgefangen, diese abgedampft, das Chlorammonium mit Silberlösung titrirt, von der 1 cbcm. = 0,01 NaCl. — In einzelnen Fällen ist auch das Verfahren von Kjeldahl angewendet: es bietet im vorliegenden Fall den grossen Vortheil, dass man den Rückstand der Aetherlösung direct in demselben Kolben mit Schwefelsäure behandeln kann, also vor allen Verlusten geschützt ist. Uebrigens muss ich bemerken, dass die Hippursäure durch Erhitzen mit Schwefelsäure, Phosphorsäureanhydrid und Kaliumpermanganat einigermassen schwierig vollständig zersetzt wird.

Aus der erhaltenen N-Menge lässt sich die Hippursäure, also auch die Hydrozimmtsäure leicht berechnen. Natürlich kann man auf das gleichzeitige Vorkommen der Phenacetursäure hierbei nicht Rücksicht nehmen, diese erscheint vielmehr als Hippursäure berechnet, die Phenylessigsäure also als Hydrozimmtsäure. Im vorliegenden Fall handelt es sich ja aber auch nur darum, einen Ausdruck für die Quantität der nicht hydroxylirten aromatischen Säuren zu finden, ob diese Hydrozimmtsäure oder Phenylessigsäure, ist zunächst gleichgültig, ja es wäre in jedem Fall, auch wenn man die Säuren einzeln hätte wägen können, eine Umrechnung auf eine der beiden Säuren, sei es nun Phenylessigsäure oder Hydrozimmtsäure, erforderlich gewesen.

Das Verfahren setzt, wie man sieht, voraus, dass bei der gewählten Fütterung keine nennenswerthen Mengen N-haltiger Substanz aus dem Harn einiger Tage in den Aether übergehen. Dies ist in der That der Fall, wie ich mich durch einige Versuche überzeugt habe. Diese sind ganz in derselben Weise ausgeführt, nur kam eine $^1/_{10}$ so starke Silberlösung in Anwendung, also 1 cbcm. = 0,001 NaCl.

So wurde von einem Kaninchen bei der erwähnten Fütterung der Harn in Alkohol gesammelt, in der angegebenen Weise behandelt; $^1/_{10}$ des in Wasser gelösten Alkoholextractes mit Salzsäure und Aether geschüttelt. Der Verdampfungsrückstand, nach Kjeldahl behandelt, forderte 5,2 cbcm. der schwächeren, also die ganze Quantität 5,2 cbcm. der stärkeren Ag-Lösung. Daraus berechnen sich 0,159 gr. Hippursäure = 0,133 Hydrozimmtsäure, z. Th. wohl scheinbare Hippursäure, da der Stickstoff z. Th. auch wohl von in den Aetherauszug übergegangenem Harnstoff herrühren kann; wenigstens habe ich bei der directen Untersuchung von solchem Harn immer nur Spuren von Hippursäure erhalten können. — In einem anderen Fall wurde für den Harn von 3 Tagen gebraucht 6,2 cbcm. = 0,189 Hippursäure = 0,158 Hydrozimmtsäure. Das sind Grössen, die für den vorliegenden Fall kaum in Betracht kommen: ich habe sie nicht in Abzug gebracht, da die Werthe für die Hippursäure aus verschiedenen Gründen in jedem Fall zu niedrig; einerseits sind Verluste bei dem complicirten Verfahren eben nicht vollständig zu vermeiden, andererseits ist anzunehmen, dass die aus der Nahrung stammende Hippursäure an den Tagen der Fütterung der Säuren noch geringer ist, da die vorangehenden Tage noch unter dem Einfluss des früheren Futters stehen, bei den Fütterungstagen dieses aber nicht mehr der Fall ist.

Der von den Stickstoffbestimmungen bleibende Rest, in der Regel $^8/_{10}$ der Lösung, diente zur Darstellung der Phenacetursäure und Hippursäure. Die Lösung wurde direct, ohne vorheriges Eindampfen, mit Salzsäure versetzt; diese fällt, wenigstens in dem vorliegenden Versuchen, nur Hippursäure, keine Phenacetursäure aus, da die Menge dieser relativ gering und ihre Löslichkeit in Wasser weit grösser ist, wie die der Hippursäure. Zur vollständigen Abscheidung der Hippursäure blieb die angesäuerte Lösung einige Tage stehen. Die ausgeschiedene Hippursäure ist, abgesehen von ihrer mehr oder weniger starken Färbung, ganz rein, so rein, dass sie nach einfachem Waschen mit Wasser schon sehr annähernd richtigen Schmelzpunkt zeigt. Eine geringe Quantität begleitenden amorphen Niederschlages lässt sich durch Dekantiren beseitigen. Die abgegossene und dann filtrirte salzsaure Mutterlauge wurde nun mit Aether erschöpft, die Auszüge bis auf einen geringen Rückstand abdestillirt: in der syrupösen Lauge schieden sich bei längerem Stehen neben einer wechselnden Menge von Hippursäurenadeln sehr harte, derbe kleine

Krystalle von Phenacetursäure aus, eingebettet in schmierige Massen, die durch Verreiben auf porösen Thonplatten beseitigt werden konnten. Die Phenacetursäure war von den beigemischten Hippursäurenadeln durch Schlemmen mit Wasser leicht zu befreien. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus Wasser unter Zusatz von etwas Kohle wurde die Phenacetursäure vollständig weiss und für die Gewichtsbestimmung rein genug erhalten; häufig war auch der Schmelzpunkt vollständig richtig. In einigen Fällen wurde auch abweichend hiervon der beim Verdunsten des Aetherauszuges bleibende Rückstand so, wie ich es für die Darstellung der Phenacetursäure aus Pferdeharn angegeben habe[1]), direct mit heissem Wasser behandelt, der nach dem Erkalten filtrirte Auszug eingedampft und zur Krystallisation über Schwefelsäure gestellt u. s, w. Das erstere Verfahren ist indessen bei den kleinen Mengen, um die es sich hier handelt, wohl vorzuziehen.

In allen Fällen wurden die so aus dem Harn erhaltenen Säuren näher untersucht. Die durch directe Ausfällung mit Salzsäure erhaltene Säure erwies sich in allen Fällen als Hippursäure, aber in allen Fällen konnte auch Phenacetursäure aus dem Aetherextract erhalten werden, der Nachweis missglückte nur in dem Fibrinversuch I, welcher nur 4 Tage gedauert hatte. Da dieser Versuch der erste nach diesem Verfahren verarbeitete war, so steht noch dahin, ob hier die Phenacetursäure in der That gefehlt hat oder vielleicht übersehen ist.

Es sind noch einige Worte über die schliessliche Identificirung der Phenacetursäure zu sagen. Die Säure bildet bei langsamer Ausscheidung, wie im vorliegenden Fall, äusserst harte kleine Krystalle, dicke rhombische Tafeln mit abgerundeten Winkeln, ähnlich manchen Harnsäureformen, in ihrem äusseren Habitus durchaus verschieden von der Hippursäure; beim Umkrystallisiren aus heissem Wasser unter Zusatz von Kohle scheiden sich Blättchen aus, welche gleichfalls mit der in Nadeln krystallisirenden Hippursäure nicht zu ver-

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVII, S. 3010.

wechseln sind. Weiterhin ist characteristisch der Schmelzpunkt der getrockneten, zerriebenen und zur Entfernung etwa beigemischter Benzoësäure nochmals mit Aether digerirten Krystalle. Derselbe lag zwischen 140 und 143°. Als qualitative Reactionen sind ferner zu benutzen: 1. der Stickstoffgehalt, 2. die characteristische Rothfärbung beim Erhitzen, wie bei der Hippursäure und der dabei auftretende aromatische Geruch.

Nachfolgende Tabelle enthält die bei der Verfütterung der Fäulnisssäuren erhaltenen Hippursäure-Mengen und die daraus berechneten Quantitäten Hydrozimmtsäure.

Nummer des Versuches.	Eiweiss-Material.	Dauer der Fäulniss in Tagen.	In Lösung gegangenes Eiweiss. gr.	Hippursäure aus dem N-Gehalt des Aetherextractes berechnet. gr.		Hydrozimmtsäure aus dem N-Gehalt des Aetherauszuges berechnet. gr.	
				gr.	% des zersetzten Eiweiss.	gr.	% des zersetzten Eiweiss.
I.	Fibrin.	4	452,2	6,088	1,35	5,100	1,12
III.	Fibrin.	9	1973,6	30,894	1,56	25,897	1,31
IV.	Fibrin.	13	386,7	6,375	1,65	5,342	1,38
Vb.	Fibrin.	22	401,6	7,160	1,78	6,00	1,49
V.	Fibrin.	26	497,7	6,272	1,58	5,25	1,32
Va.	Fibrin.	38	488,5	5,722	1,17	4,794	0,98
XII.	Fleisch.	11	370	8,266	2,23	6,480	1,75
XXII.	Pankreas-pepton.	12	1058,8	12,933[1]	1,22	10,838	1,02

1) In diesem Falle ist nicht die Hälfte, sondern nur ein Zehntel der Säuren zum Fütterungsversuch verwendet, in Versuch XXII ein Viertel.

Die Quantität der aus dem Fibrin erhaltene[n] säure bewegt sich demnach in der Mehrzahl der Fälle 1,58 und 1,78 %. Erheblich geringer ist sie nur i[n] kurzdauernden Versuch I, nämlich 1,35 %, und dem V[ersuch] von 38 Tagen Dauer = 1,17 %. Im ersteren Fall läs[st sich] die geringere Ausbeute ungezwungen von der unvollst[ändig] erfolgten Spaltung des Eiweiss ableiten und steht in [Über]einstimmung mit der geringeren Ausbeute an Indol. O[b] aus dem geringeren Werthe bei dem Versuch von 38 Ta[gen] Dauer eine Abnahme der einmal gebildeten Säure a[bleiten] darf, wage ich nicht zu entscheiden, um so weniger, als [nicht] abzusehen ist, welchen Veränderungen die einmal abgesp[altene] Hydrozimmtsäure resp. Phenylessigsäure unterliegen soll. D[as] mehr Hippursäure, wie durchschnittlich das Fibrin, lie[ferte] das Fleisch in einem Versuch. Die Quantität der aus [dem] Pankreaspepton erhaltenen Hippursäure ist merklich gering[er] wie die aus dem Fibrin selbst darstellbare.

Zur Controlle wurde in einem Falle die Hippursä[ure] und Phenacetursäure mit möglichster Genauigkeit direct be[stimmt]. stimmt. 8/10 des Auszuges aus dem Fütterungsversuch b[ei] Verwendung der Säure aus Versuch Va lieferte direct m[it] Salzsäure gefällt 2,051 gr. Dieses giebt auf's Ganze berechn[et] $\left(\times \frac{20}{8}\right)$ 5,127 gr. Im Aetherextract wurde Phenacetursäure erhalten 0,181 gr., also auf's Ganze berechnet 0,452 gr. Ein[e] kleine, gleichfalls in den Aetherauszug übergegangene Quantität Hippursäure entging der Bestimmung. Rechnet man die Phenacetursäure auf Hippursäure um (= 0,435 gr.), so ergiebt sich als Säure 5,562 gr., was mit der aus dem Stickstoffgehalt des Aetherextractes abgeleiteten Zahl 5,722 gr. sehr nahe übereinstimmt.

Was die Quantität der neben der Hippursäure in dem Fütterungsharn enthaltenen Phenacetursäure betrifft, so ist den Zahlen aus den erörterten Gründen kein hoher Werth beizumessen, indessen geben sie immerhin eine Vorstellung. In der folgenden Tabelle ist die aus der N-Bestimmung

…herextractes berechnete Hippursäure (Summe beider … ausgedrückt als Hippursäure) und die Phenacetursäure …iengestellt.

…ner …s …ches.	Eiweissmaterial.	Dauer der Fäulniss in Tagen.	Hippursäure. gr.	Phenacetursäure. gr.
.	Fibrin	4	6,088	0
…I.	Fibrin.	9	30,894	2,233
V.	Fibrin.	13	6,375	0,175
…Vb.	Fibrin.	22	7,160	Minimale Quantität.
V.	Fibrin.	26	6,272	0,255
Va.	Fibrin.	38	5,722	0,427
XII.	Fleisch.	11	8,266	0,932
XXII.	Pankreaspepton.	12	12,933	2,808

In allen Versuchen bis auf einen von nur 4tägiger Dauer …r also die Hydrozimmtsäure von etwas Phenylessigsäure …gleitet, deren relative Menge keine Gesetzmässigkeit erkennen …sst. — Abweichend von diesem Ergebniss hatten drei frühere …ersuche mit Serumalbumin nur Phenylessigsäure ergeben. …s erschien wünschenswerth, durch einen erneuten Versuch …estzustellen, ob aus diesem Material in der That keine Hydro…immtsäure entsteht. Da möglicherweise die lange Dauer der Fäulniss in den erwähnten Versuchen von Einfluss war, so wurde bei einem neuen Versuche mit Serumalbumin die Fäulniss schon am fünften Tage unterbrochen. Die Verfütterung der hieraus erhaltenen flüchtigen Säuren ergab überwiegend Hippursäure. Endlich sind noch in 3 Fäulnissversuchen mit Fleisch beide Säuren constatirt. Man kann demnach wohl den Satz aufstellen: Die Fäulniss der Eiweisskörper liefert der Regel nach Hydrozimmtsäure mit wechselnden Mengen Phenylessigsäure. Bei sehr langer Dauer der Fäulniss kann letztere überwiegen (nach 3 Versuchen mit Serumalbumin), bei sehr kurzer Dauer vielleicht fehlen.

IV. Ueber den Modus der Entstehung der Benzoësäure-Homologen bei der Fäulniss.

Durch die Analogie geleitet, sprach zuerst Tiemann[1]) die Vermuthung aus, dass die Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure, ebenso, wie die flüchtigen fetten Säuren aus Amidosäuren der Fettreihe, aus im Eiweiss präformirten Phenylamidosäuren hervorrgehen möchten. Diese Vermuthung, welche mit der von verschiedenen Autoren[2]) nachgewiesenen Bildung von Benzoësäure bei der Oxydation von Eiweiss in bestem Einklang stand, erhielt eine festere Unterlage, als E. Schulze und Barbieri[3]) die Phenylamidopropionsäure unter den Spaltungsproducten des Pflanzen-Eiweiss auffanden.

In der That erhielt kurze Zeit darauf Baumann[4]) durch Fäulnisszersetzung aus 0,5 Gramm, von Schulze selbst dargestellter, Phenylamidopropionsäure Phenylessigsäure als Spaltungsproduct. Inzwischen hatten wir[5]) Beobachtungen gemacht, welche die allgemeine Gültigkeit dieser Angabe, d. h. die ausschliessliche Entstehung der nicht hydroxylirten Säuren aus präformirter Phenylamidopropionsäure zweifelhaft machten, vor Allem die Beobachtung, dass reines Tyrosin bei der Fäulniss auch Hydrozimmtsäure lieferte (20 gr. Tyrosin gaben 1,2 gr. reine Hydrozimmtsäure).

Dem entgegen konnte Baumann[6]) in der Mutterlauge, welche aus der Fäulniss von 100 gr. Tyrosin stammte, keine der beiden flüchtigen aromatischen Säuren auffinden und erklärte es demnach für nicht ausgeschlossen, dass das zu unseren Versuchen benutzte Tyrosin mit Phenylamidopropionsäure verunreinigt gewesen sein könne. Dies ist aus verschiedenen Gründen unwahrscheinlich. Wollte man die Phenylpropionsäure, die wir erhalten haben, aus beigemischter Phenyl-

---

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XIII, S. 385.

2) Guckelberger, Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. LXIV, S. 39. — Städeler, Journal für practische Chemie, Bd. 72, S. 251.

3) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd XIV, S. 1785.

4) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 282.

5) Diese Zeitschrift, Bd VII, S. 450.

6) Ebendas., Bd. VII, S. 533.

amidopropionsäure ableiten, so müsste man eine recht erhebliche Beimischung dieser Säure annehmen. Dem entgegen erschien das Tyrosin, das wir zu unseren Versuchen verwendet haben und von dem sich eine Quantität von etwa 1,2 gr. noch in unseren Händen befindet, vollkommen rein und homogen, es ist aus heissem Wasser umkrystallisirt, wobei die weit löslichere Phenylamidopropionsäure sicher in Lösung geblieben wäre, und es giebt endlich mit Kaliumchromat und Schwefelsäure erhitzt durchaus keinen Benzaldehydgeruch. Wir halten demnach die Erklärung von Baumann für ausgeschlossen. Was noch mehr gegen die Richtigkeit derselben spricht, ist der Umstand, dass in einem weiteren Fäulnissversuch aus demselben Tyrosin keine Phenylpropionsäure oder Phenylessigsäure erhalten wurde, was offenbar der Fall sein müsste, wenn dieselbe aus Phenylamidopropionsäure stammte. Es gelingt, wie es scheint, nicht in jedem Fall, den Reductionsvorgang einzuleiten.

Nach alledem müssen wir daran festhalten, dass auch aus reinem Tyrosin nicht-hydroxylirte Säuren entstehen können. Allein wir meinen keineswegs, dass diese Quelle die einzige sei. In der erwähnten Abhandlung sagen wir l. c. S. 452 wörtlich: «natürlich wollen wir nicht in Abrede stellen, dass ein Theil der nicht hydroxylirten aromatischen Säuren auch aus Phenylamidosäuren hervorgehen kann». Die Polemik Schotten's[2]) gegen unsere angebliche Meinung ist somit gegenstandslos. Sie hätte nur dann Berechtigung, wenn wir uns für die ausschliessliche Entstehung dieser Säuren aus Tyrosin ausgesprochen hätten. Dies nimmt Schotten auch an, allein, wie aus dem Obigen[3]) hervorgeht, durchaus irrthümlicherweise. — Allerdings bleibt die Frage bestehen, wie gross der Antheil geschätzt werden soll, den die eine und den die andere Quelle auf die Entstehung der Säuren hat. In der That scheint es,

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 450.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 61.

[3]) Diese Stelle ist die einzige, an der wir die Frage berührt haben.

dass wir den Antheil des Tyrosins daran überschätzt, den des nicht hydroxylirten aromatischen Atomcomplex im Eiweiss unterschätzt haben. Unsere Anschauung beruhte neben dem Befund der Hydrozimmtsäure aus Tyrosin sehr wesentlich auch darauf, dass dasjenige Eiweiss, welches durch Trypsinwirkung wenigstens von einem Theile seines Tyrosins befreit war, anscheinend sehr wenig flüchtige aromatische Säuren gab. Der obige Versuch Nr. XXII, der nach Auffindung besserer Methoden zur Bestimmung der Menge der aromatischen Säuren angestellt ist, zeigt nun aber, dass dieses Eiweiss merklich, aber nicht sehr erheblich weniger aromatische Säure liefert, wie das Fibrin selbst. Ich neige mich also jetzt der Anschauung zu, dass im Eiweiss präformirte Phenylamidosäure-Gruppen einen grösseren Antheil an den durch Spaltung entstehenden flüchtigen aromatischen Säuren haben, wie das Tyrosin, um so mehr, seit E. Schulze[1]) auch aus Casein und Leim Phenylamidopropionsäure wenigstens mit Wahrscheinlichkeit erhalten hat. Eine weitere wichtige Stütze für die Annahme nicht hydroxylirter aromatischer (Säure-) Gruppen im Eiweissmolecül liegt offenbar in den neuen Beobachtungen von Nencki und Sieber[2]) über die Bildung beträchtlicher Quantitäten Paranitrobenzoësäure bei Behandlung von trocknem Eiweiss mit Salpetersäure.

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 121.

2) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVIII, S. 394.

Das Verhalten tertiärer Alkohole im Organismus.

Von

H. Thierfelder und **J. v. Mering.**

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. April 1885.)

Seitdem im Jahre 1875 von dem einen von uns in Gemeinschaft mit Musculus aus dem Harn von Menschen, die Chloralhydrat bekommen hatten, eine linksdrehende und Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirende Säure, die Urochloralsäure, dargestellt wurde, sind eine ganze Reihe von Körpern bekannt geworden, die in den Organismus eingeführt, sich mit der zuerst von Schmiedeberg und Meyer isolirten Glykuronsäure verbinden und als gepaarte Säuren von den Eigenschaften der Urochloralsäure im Harn erscheinen. Ausser von dem Chloral- und Butylchloralhydrat ist ein solches Verhalten von Chloroform, Morphium, Nitrobenzol, Campher, Orthonitrotoluol, Brombenzol, Phenol, Phenetol, Anisol, Dichlorbenzol, Xylol, Cumol, Terpentinöl, Benzol, Orthonitrophenylpropiolsäure, Trichloraethylalkohol, Hydrochinon, Resorcin, Thymol, Chlorphenolen, Orthonitrophenol, Paranitrophenol, Kresol, Azobenzol, Hydrazobenzol, Amidobenzol, Indol, Kairin, Menthol und Borneol sicher nachgewiesen oder wahrscheinlich gemacht worden.

Im Folgenden soll über einige weitere Substanzen berichtet werden, als deren Stoffwechselproducte sich ebenfalls gepaarte Glykuronsäuren ergeben haben. Diese dürften ein besonderes Interesse desshalb in Anspruch nehmen, weil sie der Fettreihe und zwar speciell der Gruppe tertiärer Alkohole [1]) angehören.

---

[1]) Die tertiären Alkohole waren aus der chemischen Fabrik von C. A. F. Kahlbaum in Berlin bezogen.

Tertiärer Butylalkohol (Trimethylcarbinol) $(CH_3)_3.C(OH)$.

Kaninchen. Eine Gabe von 3 cbcm. grossen kräftigen Kaninchen mit der Schlundsonde in den Magen gebracht, verändert das Allgemeinbefinden der Thiere nicht; sie sind ebenso munter, wie vorher. Der Urin verhält sich alkalischer Kupferlösung in der Siedhitze gegenüber wie normaler, nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure reducirt er dieselbe bei gelindem Erwärmen in schönster Weise. Der Harn lenkt die Ebene des polarisirten Lichtes nach links ab und zwar zeigt die 36stündige Menge (ca. 140 cbcm.) im 200 mm. langen Rohr des Soleil-Ventzke'schen Apparates eine Ablenkung von — 1,25 Theilstrichen. (Eine 1% Lösung von wasserfreiem Traubenzucker zeigt in dem benutzten Polarimeter eine Ablenkung von +1.)

6 cbcm., in derselben Weise Kaninchen beigebracht, wirken schwach einschläfernd: die Thiere liegen nach kurzem Aufregungsstadium mehrere Stunden im Halbschlaf auf der Seite. Der Harn verhält sich ebenso, wie der nach der geringeren Gabe gelassene; auch die Stärke der Linksdrehung ist ungefähr dieselbe; niemals ging sie über — 1,5 Theilstriche hinaus.

Hunde. Mittelgrosse Hunde erhielten bis zu 10 cbcm. in einer Dosis, ohne dass der Harn irgend welche Veränderungen zeigte und ohne dass Schlaf eintrat.

Tertiärer Amylalkohol (Dimethylaethylcarbinol) $(CH_3)_2.C(C_2H_5).OH$.

Dieser Alkohol zeigt eine viel intensivere Wirkung als der tertiäre Blutylalkohol.

Kaninchen. Grosse Thiere verfallen nach Eingabe von 3 cbcm. Dimethylaethylcarbinol schon nach 5—10 Minuten in tiefen Schlaf, aus dem sie in keiner Weise zu erwecken sind und der 12—24 Stunden anhält. Nach dem Aufwachen scheinen sie ganz munter und fangen alsbald wieder an zu fressen. Der Harn zeigt dasselbe Verhalten wie nach Zufuhr von Trimethylcarbinol, nur die Einwirkung auf die Polari-

sationsebene ist eine stärkere: die 36stündige Menge zeigte häufig eine Ablenkung von —3 Theilstrichen.

Hunde. Eine mittelgrosse, gut genährte Hündin bekam 10 cbcm., das Thier schlief bald ein, nach 24 Stunden taumelte es noch hin und her, nach 48 Stunden verhielt es sich wiederum ziemlich normal. Der Harn reducirte weder alkalische Kupferlösung direct noch nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, im Polarimeter zeigte er keine Ablenkung. Ein anderer mittelgrosser Hund erhielt 20 cbcm., wenige Minuten darauf trat nach einem kurzen Aufregungsstadium tiefe Narkose ein. Eine Urinprobe, die nach 8 Stunden mit dem Katheter entnommen wurde, reducirte beim Kochen alkalische Kupferlösung; zu einem Drehungsversuch reichte die Menge nicht aus. Nach 20 Stunden war das Thier todt, ohne vorher erwacht zu sein.

In der Blase fanden sich 100 cbcm. hellen, klaren Urines: er reducirte beim Kochen sehr stark alkalische Kupferlösung, drehte + 3,75 Theilstriche im Soleil-Ventzke und gährte nach Zusatz von Hefe stürmisch. Nach Beendigung der Gährung reducirte der Harn weder direct noch nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, auch war der Harn jetzt optisch inactiv. Es handelte sich also hier um gährungsfähigen Zucker (Traubenzucker).

Menschen. Der Harn von einem mittelkräftigen Manne, der im Verlauf von 2 Tagen 12 cbcm., sowie der Harn eines kräftigen Menschen, der an einem Tage 3mal 3 cbcm. genommen, unterschied sich nicht von normalem, er war optisch inactiv, reducirte weder vor noch nach dem Kochen mit Schwefelsäure alkalische Kupferlösung. Eine schlafmachende Wirkung wurde nicht beobachtet.

Pinakon (tertiäres Hexylenglycol $(CH_3)_2.C(OH).C(OH)(CH_3)_2$.

3 gr. in wässeriger Lösung grossen Kaninchen in den Magen gebracht, rufen keine besonderen Erscheinungen hervor; der Urin verhält sich normal. Nach Gaben von 10 gr. schlafen die Thiere 5—6 Stunden lang. Der Harn dreht die

Ebene des polarisirten Lichtes nach links, reducirt alkalische Kupferlösung erst bei längerem Kochen, während die Reduction nach vorangegangenem Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure schon bei gelindem Erwärmen eintritt; mit Hefe versetzt zeigt der Harn keine Gährung. Die Drehung betrug bei einer 24 stündigen Menge von 110 cbcm. — 1 Theilstrich.

Darstellung der linksdrehenden Substanzen.

Da die linksdrehende Substanz durch Bleiessig nicht gefällt wurde und in Aether sehr schwer löslich war, bedienten wir uns folgender Darstellungsmethode: Der gesammte Harn (es waren ca. 30 cbcm. verfüttert) wurde stark eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert, zur Entfernung der Hippursäure wiederholt mit grossen Mengen Aether geschüttelt und mit einer Mischung von Aether und Alkohol mehrmals extrahirt. Nachdem dann die aetherisch-alkoholische Lösung zum Theil abdestillirt war, neutralisirten wir mit Barytwasser, dampften ein, säuerten nochmals an und schüttelten noch mehrmals mit Aether aus. Auf diese Weise gelang es, alle Hippursäure zu entfernen. Jetzt wurde wiederum mit Barytwasser neutralisirt, filtrirt und das Filtrat vorsichtig mit einer Lösung von schwefelsaurem Kali versetzt, solange als noch Bariumsulfat ausfiel, und wiederum filtrirt. Der beim Eindampfen sich bildende hellgelbe Syrup wurde mehrmals mit kaltem absoluten Alkohol geknetet, um den Harnstoff zu entfernen, dann mit absolutem Alkohol ausgekocht und heiss filtrirt. Das Filtrat trübte sich sofort milchig und schied beim Erkalten weisse büschelförmig gruppirte Krystallnadeln aus, die zur Reinigung eventuell noch mehrmals aus Alkohol umkrystallirirt wurden. Durch Fällen der alkoholischen Mutterlauge mit Aether erhielt man weitere Mengen. Die Analysen der zuerst über Schwefelsäure, dann im Luftbad bei 105° getrockneten Krystalle wurden mit chromsaurem Blei ausgeführt und ergaben Werthe, die gut für Trimethylcarbinol respective Dimethylaethylcarbinolglycuronsaures Kali stimmten.

I. Aus dem Trimethylcarbinol-Harn dargestelltes Kalisalz.

1) 0,1995 gr. Kalisalz geben 0,2885 gr. CO_2 = 41,52% C und 0,1014 gr. H_2O = 5,64 % H.

2) 0,2085 gr. Kalisalz geben 0,3003 gr. CO_2 = 41,36% C und 0.1065 gr. H_2O = 5,67% H.

Die Bestimmung des Kaligehaltes ergab 13,45 % K.

Die Formel $C_{10}H_{17}KO_7$.

	verlangt	gefunden	
C	41,66	41,52	41,36
H	5,91	5,64	5,67
K	13,56	13,45	

II. Aus dem Dimethylaethylcarbinol-Harn dargestelltes Kalisalz.

1) 0,2106 gr. Kalisalz geben 0,3175 CO_2 = 43,10 % C und 0,1208 gr. H_2O = 6,36 % H.

2) 0,1925 gr. Kalisalz geben 0,2908 CO_2 = 43,18 % C und 0,1095 gr. H_2O = 6,32% H.

Die Bestimmung des Kaligehaltes ergab 13,2 %.

Die Formel $C_{11}H_{19}KO_7$

	verlangt	gefunden	
C	43,70	43,10	43,18
H	6,29	6,36	6,32
K	12,9	13,2	

Das Trimethyl- und Dimethylaethylcarbinol-glycuronsaure Kali sind leicht löslich in Wasser, schwer löslich in kaltem absolutem Alkohol, leichter in heissem absolutem Alkohol, sie reduciren alkalische Kupferlösung erst nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und zeigen linksseitige Circumpolarisation. Eine 3,5% Lösung von trimethylglycuronsaurem Kali drehte im 200 mm. langen Rohr des Soleil-Ventzkeschen Apparates —2 Theilstriche und eine 3,5 % Lösung von dimethylaethylcarbinol-glycuronsaurem Kali —2,25 Theilstriche.

Aus dem Pinakonharn wurde die linksdrehende Substanz nicht zu isoliren versucht; doch lässt das Verhalten des Harnes wohl keinen Zweifel darüber, dass es sich auch hier um eine gepaarte Glycuronsäure handelt. In Bezug auf

ihre Fähigkeit, ohne vorher mit Säure gekocht zu sein, beim Erhitzen alkalische Kupferlösung zu reduciren, schliesst sie sich der Urochloralsäure und Uronitrotoluolsäure an.

Spaltungsproducte.

Zur Darstellung der Spaltungsproducte der Trimethylcarbinol- resp. Dimethylaethylcarbinolglycuronsäure wurden ca. 12 gr. Kalisalz mit 5% Schwefelsäure erhitzt und destillirt. Das Destilliren wurde so lange fortgesetzt, bis die Flüssigkeit dunkelbraun gefärbt und reichlich Kohle abgeschieden war. Die dunkelbraune Flüssigkeit wurde mit Barytwasser alkalisch gemacht, filtrirt, der Niederschlag mit wenig Wasser versetzt, Kohlensäure eingeleitet und wiederum filtrirt. Das auf dem Wasserbade eingeengte und von dem noch nachträglich ausgeschiedenen Baryumcarbonat befreite Filtrat reducirte sehr schön bei gelindem Erwärmen alkalische Kupferlösung, gab mit Schwefelsäure eine intensive Trübung und mit Barytwasser einen äusserst feinflockigen Niederschlag (basisch glycuronsaurer Baryt).

Das Destillat wurde im Le Bel-Henninger'schen Apparat der fractionirten Destillation unterworfen.

Bei der fractionirten Destillation des bei der Spaltung des trimethylcarbinolglycuronsauren Kali erhaltenen Destillates gingen zwischen 78—82° vier bis fünf cbcm. Flüssigkeit über; dann stieg das Thermometer schnell auf 100°. Bei nochmaliger Destillation in einem kleinen Kölbchen zeigte die Flüssigkeit wiederum einen Siedepunkt von 78—82°. Trimethylcarbinol siedet bei 83°, mit Wasser aber bildet es ein Hydrat $2(C_4H_{10}O) + H_2O$, welches bei 80° siedet; wir hatten es im vorliegenden Falle demnach offenbar mit dem Hydrat zu thun. Ausserdem liessen Geruch, Geschmack und Brennbarkeit keinen Zweifel, dass die bei 78—82° übergegangene Flüssigkeit Trimethylcarbinol war.

Bei der fractionirten Destillation der Flüssigkeit, welche bei der Spaltung des dimethylaethylglycuronsauren Kali erhalten war, ging bereits zwischen 70—80° ein geringer Theil einer Flüssigkeit über, die sich mit wenig Wasser nicht

mischte, deutlich wie Dimethylaethylcarbinol roch und schmeckte sowie brennbar war. Bei nochmaliger Destillation zeigte die Flüssigkeit einen constanten Siedepunkt bei 85—90°. Nach den Literaturangaben soll der tertiäre Amylalkohol bei 102° sieden, der von C. A. F. Kahlbaum in Berlin bezogene Alkohol ging aber zum grossen Theil schon bei 85—90° über.

Aus vorstehender Untersuchung ergibt sich, dass die Trimethylcarbinol- und Dimethylaethylcarbinolglycuronsäure beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure unter Wasseraufnahme in Trimethylcarbinol resp. Dimethylaethylcarbinol und in Glycuronsäure gespalten wird, während im Organismus unter Wasseraustritt eine Vereinigung stattfindet nach folgenden Gleichungen:

$$(CH_3)_3.C(OH). + C_6H_{10}O_7 = C_{10}H_{18}O_7 + H_2O$$

$$(CH_3)_2.C(C_2H_5).OH + C_6H_{10}O_7 = C_{11}H_{20}O_7 + H_2O.$$

Wenn sich die vorliegende Untersuchung auch nur auf drei tertiäre Alkohole erstreckt, so darf in Anbetracht des übereinstimmenden Verhaltens dieser Substanzen wohl der Schluss gezogen werden, dass die Fähigkeit sich im Organismus mit Glycuronsäure zu verbinden, eine allen tertiären Alkoholen gemeinsame ist. Verschiedene primäre und secundäre ein- und zweiwerthige Alkohole, die wir am Thierkörper prüften, waren nicht im Stande die Paarung mit Glycuronsäure einzugehen.

Wir erwähnen noch, dass weder nach dem tertiären Butyl- noch Amylalkohol eine Vermehrung der gepaarten Schwefelsäure im Harn stattfand.

Schliesslich sei es gestattet, noch einmal darauf hinzuweisen, dass die untersuchten Alkohole ein weiteres Beispiel für die verschiedene Wirkung liefern, die manche Stoffe auf den Organismus des Hundes und des Kaninchens ausüben und sich in dieser Beziehung der Orthonitrophenylpropiolsäure[1]) anreihen.

---

[1]) G. Hoppe-Seyler, diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 403.

Chemische Studien über die Entwicklung der Insecteneier.

Von

A. Tichomiroff.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. April 1885.)

Nachdem die vergleichend-embryologischen Studien für die allgemeine Morphologie schon so vieles geleistet haben, kann man mit vollem Rechte erwarten, dass sie auch für die physiologische Chemie werthvolle Resultate liefern werden. Bis jetzt aber sind in dieser Richtung noch sehr wenige Arbeiten ausgeführt worden. Das Hauptsächlichste, was man von der Chemie der sich entwickelnden Eier weiss, betrifft meines Wissens nur die Wirbelthiere und speciell das Hühnchen. Die wirbellosen Thiere waren bis jetzt beinah gar nicht berücksichtigt, obgleich Etliche von ihnen doch ein sehr bequemes Material für solche Untersuchungen liefern. Wir haben unter unsern Hausthieren ein Insect, den Seidenspinner, Bombyx mori L., von dem wir immer frisches und reichliches Material für solche Untersuchungen gewinnen können. Vielleicht stellen auch die Eier von B. mori in vielen Beziehungen ein günstigeres Object für chemische Studien dar, als die Hühnereier. Man kann diese Eier in gutem Zustande in der Zeit vom Juni bis zum April aufbewahren. Will man sie zur Entwicklung bringen, so kann es schon vom Ende Januar an geschehen. Bequem ist es auch, dass diese Bebrütung bei 18—20° R. am besten vor sich geht und dass das Erkalten der Eier bis zur gewöhnlichen Zimmertemperatur den Embryonen keinen grossen Schaden thut. Für die folgenden

Untersuchungen habe ich die Eier von B. mori als Object gewählt, nachdem ich mich schon ziemlich viel mit der Morphologie dieses Thieres beschäftigt hatte.

Bevor ich zur Darstellung dieser Resultate übergehe, sei es mir erlaubt, Herrn Dr. Kossel, Leiter der chemischen Arbeiten im physiologischen Institute zu Berlin, für seinen wissenschaftlichen Beistand, Rath und Hülfe meinen Dank hier öffentlich auszusprechen.

Die Eier (der sogenannte «Samen») unseres Thieres werden im Innern des Mutterleibes befruchtet nnd zu 400—500 vom Weibchen im Sommer abgelegt. Die frisch abgelegten Eier sind strohgelb und von zwei Häutchen umhüllt: von einem äusseren derben Chorion und von einer dünnen Dotterhaut. In Folge der Entwickelung verändert sich die Farbe der Eier vom Strohgelb bis zum Grauviolett. Diese grauviolette Färbung ist von einem sich in der sogenannten serösen (oberen) Embryonalhülle entwickelnden Pigmente bedingt. Desshalb bleiben die unbefruchteten Eier ohne jede Veränderung ihrer Farbe.

Die Eier von B. mori entwickeln sich im Sommer nur bis zu einer gewissen Stufe und zwar bis zur Ausbildung der definitiven Keimblätter. In diesem Stadium ruhen die Eier den ganzen Winter. Bringt man sie aber z. B. im Februar in ein geheiztes Zimmer, ungefähr in die Temperatur von 18—20° R., so schlüpfen die Räupchen schon in zwei Wochen aus.

Bei meinen Studien stellte ich mir als meine erste Aufgabe, die chemische Zusammensetzung der überwinternden Eier zu studiren und sie später mit der chemischen Zusammensetzung der entwickelten Eier zu vergleichen, um daraus eine Anschauung zu gewinnen über die Veränderungen, welche im Insectenei während seiner Entwickelung stattfinden.

Ich werde mit den überwinternden Eiern beginnen. Wie gesagt, bestehen die Eier aus dem Dotter (der in seinem Innern den Embryo beherbergt), der Dotterhaut und dem Chorion. Eine Isolation der Dotterhaut ist unmöglich. Dess-

wegen habe ich hier nur die Analysen des Chorion und des Dotters (mit Dotterhaut) zu besprechen. Vorher will ich einige Daten über das Gewicht und den Wassergehalt mittheilen.

Was das Gewicht der Eier betrifft, so variirt es ziemlich. Man muss es auch erwarten, da der Seidenwurm ein Hausthier ist und es schon viele Racen dieser Species giebt. Bei meinen Untersuchungen habe ich als Maximum für 100 überwinternde Eier 0,0691 gr., als Minimum 0,0512 gefunden.

Der Wassergehalt zeigt nicht sehr grosse Schwankungen. So habe ich in den schwersten Eiern 64,40 % Wasser gefunden und in den leichtesten 65,82 %.

Wenden wir uns jetzt zur Analyse des Chorions. So wird in der Zoologie die derbe Schaale genannt, die das Insectenei von Aussen umhüllt. Bei B. mori ist diese Schaale ziemlich dick und wie gewöhnlich bei den Insecten mit hübschen Sculpturen bedeckt und von feinen, zur Peripherie schief stehenden Porenkanälen durchbohrt. Ihrer Entstehung nach, hat sie zur Eizelle selbst keine Beziehung; sie ist ein Produkt des Ovariums des Mutterthieres und zwar ist es das Follikelepithel, das diese Haut erzeugt.

Vom morphologischen Standpunkte aus schien es mir sehr interessant zu ermitteln, wie dieses Chorion chemisch zu deuten sei. In der zoologischen Litteratur hört man sehr oft von chitinigen und chitinartigen Eischaalen bei den Wirbellosen sprechen. Dafür kann man sehr viele Beispiele sowohl in der älteren, wie in der neueren Litteratur finden. So sagt Leydig in seinem «Lehrbuch der Histologie des Menschen und der Thiere» (1857) «die Härtung der Eischaalen (bei Wirbellosen) geschieht zumeist durch Chitinisirung»; nach demselben Autor sollen auch die Eier der Moosthierchen [1]) eine chitinisirte Schaale besitzen. In der letzten Zeit spricht auch H. Schauinsland [2]) von einer chitinartigen Eischaale bei den Trematoden. Solche Beispiele kann man in der Litteratur sehr viele finden. Aber man kann doch diesen

---

1) Müller's Archiv, 1855.

2) Jenaische Zeitschrift, Bd. XVI,

Behauptungen, dass die Eischaalen der Wirbellosen chitinisirt sein können, kein Vertrauen schenken bis sie nicht durch die Elementaranalyse bestätigt sind, wie schon Schlossberger mit Recht betont hat.[1]) Vom morphologischen Standpunkte aus würde es auch sehr schwer zu verstehen sein, dass das Chorion Chitin enthält: es gelang noch Niemandem, ein ächtes Chitin zu constatiren in solchen Organen, die nicht vom Ectoderm abstammen. Meine Untersuchungen zeigten nochmals, dsss bei den Insecten das Ectoderm keinen Antheil in der Bildung der Sexualdrüsen nimmt. Somit durfte ich hier kein Chitin erwarten. Aus Folgendem wird man sehen, dass vom Chitin hier in der That keine Rede sein kann.

Um die Schaalen für die Analyse rein zu bekommen, wurden die Eier zunächst mit kleineren Portionen schwacher (1:1000) Salzsäure in einem Mörser zerrieben, dann zwei Stunden in grösserer Menge derselben Salzsäurelösung auf dem Wasserbade erwärmt; der durch Abgiessen getrennte unlösliche Rückstand mehrere Stunden in wirksamer Pepsinlösung im Brütofen digerirt, dann zur weiteren Reinigung wiederholt mit schwacher Salzsäurelösung in einem Mörser wieder zerrieben, um mechanisch alle unverdauten Dotterreste zu entfernen, später mehrmals mit 96 prozentigen Alkohol ausgekocht und endlich mit Aether nnd noch mit einer Mischung von Aether und Alkohol sorgfältig ausgewaschen. Kontrolirt man unter dem Mikroskop die so behandelten Schaalen, so findet man an ihnen keine Spur von Dotterresten. Die Schaalen selbst sind jetzt schwach gelblichweiss und etwas glänzend.

Um das relative Gewicht der Schaale im Ei zu bestimmen, waren 0,9040 gr. Eier genommen. Es ergab sich, dass diese Quantität Eier 0,0802 gr. trockener Schaale enthält; so dass das Gewicht der Schaale 8,87 % des Gesammtgewichts des Eies ausmacht oder 25,97 % des Gewichts der Trockensubstanz des Eies.[2])

---

[1]) Die Chemie der Gewebe (1856), S. 229.

[2]) Der Wassergehalt der genommenen Eier war der maximale, betrng also 65,82.

Gehen wir jetzt zur Elementaranalyse der Schaale über. Um zu constatiren, ob die Schaale chitinartig sei oder nicht, war dieselbe zuförderst auf ihren Stickstoffgehalt geprüft. Es waren zwei verschiedene Portionen der gereinigten Schaalensubstanz genommen und in ihnen der Stickstoffgehalt volumetrisch bestimmt.

1. Angewandte Substanz 0,2251 gr.; erhalten 33,2 c. c. N. Tp. 17,3°, Bar. 751 mm.; 16,88 p. ct. N.
2. Angewandte Substanz 0,2230 gr.; erhalten 32,4 c. c. N. Tp. 18,6°, Bar. 769 mm.; 16,98 p. ct. N.

Also wie wir sehen enthält die Schaalensubstanz beinahe 3 mal so viel Stickstoff wie das Chitin. Zur Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs waren Portionen von drei verschiedenen Darstellungen gereinigter Schaalensubstanz genommen.

1. 0 2219 gr. Substanz gaben 0,3845 p. CO_2 und 0,1371 gr. H_2O, d. i. 47,22 % C, 6,85 % H.
2. 0,2139 gr. Substanz gaben 0,3704 gr. CO_2 und 0,1290 gr. H_2O, d. i. 47,22 % C, 6,68 % H.
3. 0,2793 gr. Substanz gaben 0,4854 gr. CO_2 und 0,1659 gr. H_2O, d. i. 47,36 % C, 6,59 % H.

Die Schaalensubstanz löst sich sehr leicht in kochender Natron- und Kalilauge. Säuert man solche Lösungen an, so entweicht sogleich Schwefelwasserstoff. Diese Reaction zeigte schon von vorn herein, dass man einen bedeutenden Schwefelgehalt im Chorion erwarten muss.

Es werden zur Bestimmung des Schwefels zwei Portionen Schaalensubstanz mit Soda und Salpeter geschmolzen.

1. Angewandte Substanz 0,6542 gr. Erhalten schwefelsaurer Baryt 0,1864, d. i. 0,0256 gr. S oder 3,91 %.
2. Angewandte Substanz 0,4227 gr. Erhalten Schwefelsaurer Baryt 0,1058, d. i. 0,0145 gr. S. oder 3,43 %.

Zur Bestimmung des Aschengehalts wurden 0,6302 gr. Schaalensubstanz genommen.

Die Gesammtmenge der Asche war hier zu 0,0044 gr., oder 0,70 % bestimmt.

Fassen wir die Resultate der Analyse zusammen, so bekommen wir folgenden Procentgehalt für einzelne Bestandtheile der Schaalensubstanz:

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	Mittel.
C	47,22	47,22	47,36	—	—	—	—	—	47,27 %
H	6,85	6,68	6,59	—	—	—	—	—	6,71 %
N	—	—	—	16,88	16,98	—	—	—	16,93 %
O	—	—	—	—	—	—	—	—	24,72 %
S	—	—	—	—	—	3,91	3,43	—	3,67 %
Asche	—	—	—	—	—	—	—	0,70	0,70 %

Wie wir aus der chemischen Analyse ersehen, ist die Schaalensubstanz des Insecteneies kein Chitin und auch keine «Chitinartige» Substanz. Leider sind mir keine Untersuchungen über chemische Bestandtheile des ächten Chorion bei anderen Thieren bekannt; desshalb ist auch kein Vergleich möglich. Wir wissen aber, dass vielleicht im ganzen Thierreiche kein anderes Organ existirt, welches in morphologischer Beziehung so übereinstimmende Merkmale zeigt, wie der Sexualapparat. Desshalb glaube ich, könnte man auch eine solche Uebereinstimmung in chemischer Beziehung erwarten und vielleicht ist es keine zu kühne Vermuthung, wenn ich annehme, dass das ächte Chorion immer aus einer und derselben Substanz besteht. Desshalb schlage ich vor, die Substanz, die ich im Chorion des B. mori gefunden habe, als Chorionin zu bezeichnen.

Dieses Chorionin unterscheidet sich bedeutend von dem dem Elastin ähnlichen Körper, den Hilger[1]) in der Schaale von Schlangeneiern entdeckt hat, indem dieser Körper keinen Schwefel enthält. Diese Verschiedenheit in den Hauptbestandtheilen der Schaale des Schlangen- und des Insecteneies spricht nicht gegen meine eben erwähnte Vermuthung, da die Schaale des Schlangeneies kein Chorion ist, nicht vom Follikelepithel (also nicht vom Ovarium) sondern vom Leitungsapparat abstammt.

Seiner chemischen Zusammensetzung nach steht vielleicht das Chorionin am nächsten dem Keratin, doch enthält es

[1]) Berichte der deutsch. Chem. Ges. 1873.

relativ wenig Kohlenstoff. Für einen Keratin-ähnlichen Körper würde ich doch das Chorionin desshalb nicht halten, weil das Keratin ein entschieden ectodermales Gebilde zu sein scheint, während Chorionin, wie gesagt, zum Ectoderm in keiner Beziehung steht. Ein weiteres Studium des Chorionins (besonders die Untersuchung der Zersetzungsprodukte) muss die Frage nach seinen chemischen Beziehungen zum Keratin entscheiden.

In concentrirter Natron- und Kalilauge löst sich Chorionin beim Kochen sehr leicht, indem es sich im ersten Momente der Einwirkung des Reagens gelb färbt. In kochender concentrirter Salpetersäure löst es sich beinah momentan mit derselben Färbung, nicht so leicht in concentrirter Salzsäure, doch nach 10—15 Minuten löst es sich auch in dieser vollständig.

Gegen alle concentrirten Säuren ist das Chorionin sehr resistent, dagegen löst es sich in kalter Kalilauge, wenn nicht so schnell, wie in kochender, doch leicht.

Die Analyse des Dotters der überwinternden Eier wurde nach den §§ 263 und 321 von Hoppe-Seyler's Handbuch der Chemischen Analyse (fünfte Auflage) ausgeführt und es ergaben sich hier folgende Resultate:

Es war genommen im Ganzen 50,4482 gr. Eier. Davon bekam man

Nr. 1	In Wasser, Alkohol u. Aether unlösliche Substanzen	10,1834 gr.
Nr. 2	In siedendem Alkohol löslich, im Alkohol u. Aether unlösl.	0,7372 »
Nr. 3	In siedendem Wasser lösl. (im siedendeu Alkohol unlösl.)	1,9814 »
Nr. 4	In Aether und Alkohol löslich (im Aether unlöslich)	0,2179 »
Nr. 5	In reinem Aether löslich	4,8059 »

Wenden wir uns jetzt zur Besprechung der einzelnen Bestandtheile. Die unter Nr. 1 bezeichneten Körper sind Chorionin, Eiweisskörper und Asche. Was die letztere anbetrifft, so habe ich sie hier zu 0,1650 gr. (1,62 %) gefunden In der Asche wurden Schwefelsäure, Phosphorsäure, Calcium, Magnesium und Spuren von Natrium constatirt.

Von den Eiweisskörpern macht den grössten Theil der vitellinähnliche Körper aus. So nenne ich den Eiweisskörper der mit verdünnter Steinsalzlösung aus den zerriebenen Eiern des Seidenspinners extrahirt und nach dem Verdünnen mit destillirtem Wasser und Durchleiten von CO_2 gefällt wird. Es coagulirt dieser Körper schon bei 68 ° C. Dieser Coagulationspunkt ist für das echte Vitellin etwas zu niedrig. Es findet sich auch in den Eiern des B. mori ein Eiweisskörper, der mit Wasser extrahirt wird, also vielleicht das Eieralbumin darstellt. Dieser Körper coagulirt auch relativ sehr niedrig. Eine Trübung habe ich schon bei 64 °, eine Coagulation bei 66 ° gefunden. Da in der Magensaftlösung des vitellinähnlichen Eiweisskörpers bei längerem Stehen ein Niederschlag sich bildete, der sich in Soda löste und wieder mit schwacher Salzsäure gefällt wurde, so kann man auch einen Nucleingehalt des Dotters vermuthen; leider wurde eine weitere Untersuchung desselben nicht ausgeführt. Von dem Kernnuclein [1]) werde ich noch später sprechen.

In Nr. 2 und 3 konnte man lösliche Salze, Glycogen und Pepton erwarten. Was die ersten anbetrifft, so habe ich hier 0,4532 gr. (16,67 %) Asche gefunden. Die qualitative Analyse ergab Phosphorsäure, Kalium, Natrium, Calcium und Magnesium. Um über die Menge der Peptone zu urtheilen, war in der Mischung von 2 und 3 eine Stickstoffbestimmung ausgeführt und es war 10,32 % Stickstoff gefunden (die Asche abgerechnet — 12,38 % N).

Ueber den Glycogengehalt der überwinternden Eier werde ich später sprechen.

Was die Asche der Nr. 4 betrifft, so war hier 0,0150 gr. (6,88 %) Asche gefunden. Die qualitative Analyse zeigte Schwefelsäure, Salzsäure und Spuren von Phosphorsäure, dann Calcium und Natrium.

In der Nr. 5 waren Cholesterin, Lecithin und Fett gefunden und zwar Cholesterin 0,2027 gr. (0,40 %), Lecithin 0,5263 gr. (1,04 %) und Fett 4,0769 gr. (8,08 %).

---

[1]) Vergl. Kossel in Verhandlungen der physiol. Gesellschaft zu Berlin, Jahrg. 1884/85 Nr. 9 u. 10 S. 27.

Bevor wir zur Analyse der vollkommen entwickelten Eier übergehen, will ich einige Bemerkungen über den Gehalt an Glycogen, sowie an dem Nuclein der Zellkerne in den überwinternden Eiern machen.

Es wurden 19,3788 gr. unentwickelter Eier genommen und in ihnen 0,3838 gr. Glycogen (nach der Methode von Brücke) gefunden. Diese Quantität macht 1,98 % des Gesammtgewichts der Eier, oder 5,79 % ihrer Trockensubstanz aus. Denken wir nun, dass dieses Glycogen in solchen Eiern gefunden war, die einen Embryo enthalten, der noch keine Organe (nur definitive Keimblätter) besitzt, so sehen wir den Satz, dass nicht die Leberzellen allein die Bildungsstätten dieses Kohlenhydrats sind [1]) bestätigt (es sei hier bemerkt, dass in unserem Falle auch die erwachsene Raupe keine differenzirte Leber besitzt).

Um die überwinternden Eier auf das Nuclein der Zellkerne zu prüfen, wurden 24,6 gr. dieser letzten genommen und nach dem Verfahren von H. Dr. Kossel auf ihren Gehalt an stickstoffreichen Basen untersucht. In diesem Quantum der Eier wurden 0,0039 gr. (weniger als 0,02 %) Hypoxanthin, Guanin (und Adenin?) gefunden. Von Xanthin wurden nur Spuren nachgewiesen. Eine gewisse Quantität von Kernnuclein, resp. dieser stickstoffreichen Basen musste man schon von vorn herein erwarten, da die überwinternden Eier, wie erwähnt, einen Keimstreifen enthalten und da die grossen sogenannten Dotterzellen, die die Hauptmasse des Eies ausmachen, echte Kerne besitzen.

Jetzt gehen wir zu den entwickelten Eiern über. Um diese letzteren zu untersuchen war eine Portion der Eier bebrütet, d. h. in einem kleinen Schranke bei ungefähr 23 ° C. gehalten. Schon am 13. Tage waren zwei Räupchen ausgekrochen, die Bebrütung war dann unterbrochen und die Eier zur Analyse verwendet. Um aber zu wissen, was für ein Gewicht der entwickelten Eier einer gewissen Menge der überwinternden Eier entspricht, wurde eine specielle Untersuchung über den Gewichtsverlust der Eier während der Ent-

1) Vergl. Preyer, Specielle Physiologie des Embryo (1884) p. 272.

wickelung unternommen. Dabei ergab sich ein vielleicht nicht ganz uninteressantes Resultat, das ich hier gleich mittheilen werde. Die folgende Tabelle, in der ich die Resultate von zwei Versuchen zusammenstelle, sind zwar nicht untereinander vergleichbar, da die Entwickelung in dem zweiten Falle schneller verlief, und die Eier aus anderer Quelle stammten, als im ersten. Man erkennt aber deutlich die progressive tägliche Gewichtsabnahme aus beiden.

1. Versuch.

Tage.	Absolutes Gewicht.	Tägliche Abnahme.
Anfang	1,0388 gr.	
8	1,0029 »	$\frac{0,0359}{7}$
9	0,9952 »	0,0077
11	0,9624 »	$\frac{0,0328}{2}$
12	0,9428 »	0.0196
13	0,9229 »	0,0199

2. Versuch.

Tage.	Absolutes Gewicht.	Tägliche Abnahme.
Anfang	0,6854 gr.	
3	0,6776 »	$\frac{0,0078}{2}$
4	0,6739 »	0,0037
5	0,6687 »	0,0052
6	0,6562 »	0,0125[1])
7	0,6490 »	0,0072
8	0,6328 »	0,0162
9	0,6152 »	0,0176

Für Jemanden, der sich hauptsächlich mit der Morphologie beschäftigt, ist doch in erster Linie interessant, ob die morphologischen Aenderungen in einer gewissen Beziehung zu der Gewichtsabnahme der Eier während ihrer Entwickelung stehen oder nicht. Aus den Arbeiten von Baumgärtner einerseits und Pott und Preyer[2]) anderseits, kann man, wie mir scheint, solche Beziehungen nicht ermitteln. Ja die letzteren Autoren glauben sogar gezeigt zu haben, dass beim Hühnerei »für jedes einzelne Ei der stündliche oder tägliche Gewichtsverlust eine Constante ist« und weiter: »die Gewichtsabnahme des bebrüteten normal entwickelten oder unbefruchteten Eies verläuft von der Mitte der ersten Brütwoche bis zur Mitte der letzten der Zeit proportional« (s. S. 329, 331).

Aus meiner Tabelle kann man sehen, dass bei den Eiern von B. mori die Sache sich folgendermassen verhält:

---

[1]) Diese Zahl ist relativ etwas zu gross: vielleicht waren die Eier diesen Tag zu spät gewogen.

[2]) Pflüger's Archiv f. d. g. Physiologie.

wir finden hier, dass während die Eier beim ersten Versuch im Ganzen 11,16 % ihres Totalgewichts verloren haben, der Verlust in den ersten 9 Tagen 4,20 %, in den letzten 4 Tagen 6,96 % betrug. Erinnern wir uns der morphologischen Vorgänge, die diesen zwei angeführten Perioden der Entwickelung entsprechen, so ergiebt es sich, dass bis zum 9. Tage der Embryo seine Rückenwand noch ganz offen hat, dass in ihm zu dieser Zeit nur die ersten Anlagen des Mitteldarms und der Tracheen und keine Anlage des Herzens selbst existiren. Alle diese wichtigen Organe entwickeln sich in den letzten 4 Tagen (bei der oben erwähnten Temperatur). Daraus ziehe ich den Schluss, dass bei B. mori die Gewichtsabnahme in einer gewissen Beziehung zu den morphologischen Aenderungen steht, die im Inneren des Eies während der entsprechenden Zeit sich abspielten.

Wenden wir uns jetzt zu den Zahlen, die aus der chemischen Analyse der entwickelten Eier resultiren. Es wurden 40,0430 gr. Eier genommen. Davon habe ich erhalten:

Nr. 1	Im Wasser, Alkohol und Aether unlöslich	8,2386 gr.
Nr. 2	Im siedenden Alkohol lösl., im Alkohol u. Aether unlösl.	0,5524 »
Nr. 3	Im siedenden Wasser lösl. (im siedenden Alkohol unlösl.	1,8137 »
Nr. 4	Im Aether und Alkohol löslich (im Aether unlöslich)	0,0850 »
Nr. 5	Im reinen Aether löslich	2.9113 »

Wenn wir jetzt auf einzelne Bestandtheile unsere Aufmerksamkeit lenken, so ist in erster Linie hervorzuheben, dass in allen angeführten Gruppen (Nrn. 1—4) der Procentgehalt der Asche gesteigert ist; so war es in Nr. 1 0,1492 gr. (1,81 %) in Nrn. 2 und 3 0,4716 gr. (19,93 %) und in Nr. 4 0,0085 gr. (10 %). Da es unmöglich ist, dass die absolute Menge der Asche [1]) während der Entwickelung zugenommen

---

[1]) Rechnen wir die ganze Menge der Asche in den analysirten Eiern zusammen, so bekommen wir in den 50,4482 gr. überwinternden Eiern 0,6332 gr. und in 40,0430 gr. entwickelter Eier 0,6293 gr. Asche. Wenn wir uns erinnern, dass die Eier während ihrer Entwickelung 11,16 % ihres ursprünglichen Gewichts verloren haben, so ist hier die Verschiedenheit des Aschengehalt sehr leicht auf eine individuelle Verschiedenheit der genommenen Eier zu beziehen.

hat, so ist die Steigerung des Procentgehaltes der Asche hier so zu erklären, dass ein gewisser Verlust an organischer Substanz während der Entwickelung stattfindet.

Die Nr. 2 und Nr. 3 geben uns die Möglichkeit über die Menge der Peptone zu urtheilen. Vergleichen wir hier das Gesammtgewicht der Nrn. 2 u. 3 in den überwinternden Eiern und in den entwickelten, so sehen wir, dass die letzteren mehr Stoffe dieser Categorie erhalten, da aber, wie wir es später sehen werden, das Glycogen in den entwickelten Eiern sehr stark abnimmt, die Asche aber ziemlich wenig zunimmt, so können wir sagen, dass die Summe der Peptone während der Entwickelung schon bedeutend zunimmt. Dementsprechend war die Menge des Stickstoffs in der Mischung von Nr. 2 und 3 zu 11,43 % bestimmt (die Asche abgerechnet 14,27 %).

Im Aether-Auszuge der entwickelten Eier habe ich gefunden Cholesterin 0,1567 gr. (0,35 %), Lecithin 0,7852 gr. (1,76 %), Fett 1,9694 gr. (4,42 %). Es ergiebt sich also im Vergleiche mit überwinternden Eiern eine Verminderung von Cholesterin und Fett (letztere ist beträchtlich) und eine sehr geringe Steigerung des Lecithins.

Es ist wohl bekannt, dass F. W. Burdach bei seinen Untersuchungen über die Eier von Limnaeus stagnalis eine Steigerung des Fettgehalts während der Entwicklung gefunden hat. Wie wir sehen, bestätigen meine Untersuchungen diesen räthselhaften Fund von Burdach bei andern Wirbellosen nicht.

Es ist schon erwähnt, dass die entwickelten Eier von Bombyx mori viel weniger Glycogen enthalten, als die überwinternden. Hier habe ich folgende Resultate bekommen: es waren 19,6970 gr. Eier genommen, in denen 0,1643 gr. Glycogen gefunden wurden. Rechnen wir die Procente aus, so bekommen wir nur 0,83 % des Gesammtgewichts der Eier oder 2,26 % des Gewichts ihrer Trockensubstanz.

Es ist eine bekannte Sache, dass ebensowohl in jungen Embryonen, wie auch bei den erwachsenen Thieren während des Winterschlafes eine relativ grosse Menge von Glycogen

aufgespeichert wird, und dass der grösste Theil dieses Glycogens am Ende der Entwickelung resp. beim Erwachen vom Winterschlafe wieder verschwindet. Die Eier von B. mori, die junge Embryonen enthalten und im latenten Zustande den Winter verbringen, vereinigen in sich die zwei eben erwähnten biologischen Momente und desshalb könnte man schon von vornherein hier einerseits eine Aufspeicherung und dann später andererseits einen Verlust von Glycogen erwarten, was ich auch in der That gefunden habe. Es war aber noch hier die Frage aufzuwerfen, ob sich nicht eine Beziehung zwischen dem Verlust von Glycogen und der Bildung des Chitins findet. Zwar haben hier meine Untersuchungen nichts Entscheidendes ergeben; doch sprechen sie nicht gegen die Vermuthung von Claude Bernard, dass das Chitin vom Glycogen abstammt. In denselben 19,6907 gr. Eiern, die zur Bestimmung des Glycogengehalts verwendet wurden, habe ich auch quantitativ Chitin bestimmt und betrug diese Substanz 0,0471 gr., also 0,24% oder 0,70% der Trockensubstanz.

Um die entwickelten Eier auf das Kernnuclein zu prüfen, wurden 16,9214 gr. Eier genommen und daraus Silberverbindung von Hypoxanthin, Guanin (Adenin) 0,0509 gr. und Silberverbindung von Xanthin 0,0395 gr. erhalten. Berechnet man darauf die Menge dieser stickstoffreichen Basen selbst, so bekommt man Hypoxanthin (resp. Guanin oder Adenin) 0,0226 gr. (0,13%), Xanthin 0,0176 gr. (0,10%). Wir sehen also, dass gerade mit den weiteren Differenzirungen der Embryonalgewebe resp. mit der Steigerung der Menge der Zellkerne, auch die Menge der stickstoffreichen Basen zunimmt.

Fassen wir jetzt zum besseren Vergleich die Resultate der Analysen der überwinternden und der entwickelten Eier in einer Tabelle zusammen. Um einen wahren Vergleich zu haben, müssen wir zur Berechnung der Procent-Zahlen in den entwickelten Eiern nicht das absolute Gewicht derselben nehmen, sondern wir müssen zu diesem Gewicht diejenige Quantität zuzählen, welche die Eier während ihrer Entwickelung verloren haben (11,16% der feuchten Substanz).

100 gr. Eier geben:

	Vor der Bebrütung.	Am Ende der Bebrütung.
Feuchte Substanz	100,00	88,84
Feste Substanz	35,51	30,20
Eiweiss und unlösliche Salze . . .	11,31	9,20
Wasserextract	5,81	5,46
Darin Glycogen	1,98	0,74
Aetherextract	9,52	6,46
Darin Fett	8,08	4,37
» Lecithin	1,04	1,74
» Cholesterin	0,40	0,35
Chorionin	8,87	(8,87)
Chitin	—	0,21
Stickstoffreiche Basen	0,02	0,21

Ich muss hier daran erinnern, dass in der Portion der Eier, die in unentwickeltem Zustande analysirt wurden, der Wassergehalt zu 64,60% bestimmt war. Bei der Analyse ist, wie man in der angeführten Tabelle sieht, die Summe der Trockensubstanz zu 35,51% gefunden. Also stimmen diese Zahlen sehr gut mit einander (von der kleinen Differenz kann man absehen). In der anderen Portion, von welcher die Eier zur Bebrütung verwendet waren, war der Wassergehalt (vor der Bebrütung) zu 65,82% bestimmt. Also müsste man erwarten, bei der Analyse ungefähr 34% Trockensubstanz zu bekommen. In der That wurden aber, wie man aus der Tabelle ersieht, nur 30,55 % gefunden. Daraus kann man den Schluss ziehen, dass die Eier während ihrer Entwickelung 3,45% ihrer Trockensubstanz verloren haben. Da aber die Eier im Ganzen 11,16 % ihres Gesammtgewichtes verloren haben, so sind die bleibenden 7,53% auf Wasserverlust zu beziehen.

In dieser Weise hat die Trockensubstanz der Eier während der Entwickelung derselben 10,62% (3,63 von 34,18) ihres Gewichts, das Wasser 11,44% (7,53 von 65,82) verloren. Es müssen also die entwickelten Eier im Vergleich zu den überwinternden, wenn auch nicht viel, doch etwas ärmer an Wasser sein. Zur Controlle wurden 500 entwickelte Eier genommen und ihr Gewicht zu 0,2700 gr. bestimmt. Wenn

diese Eier bis zum constanten Gewicht getrocknet wurden, wogen sie 0,0945 gr. Rechnet man hier den Wassergehalt aus, so bekommt man nicht 65,82% wie bei den unentwickelten, sondern nur 65%.

Zum Schluss muss ich noch bemerken, dass bei ausgekrochenen Räupchen ein in salzsaurer Lösung peptonisirendes Ferment nachgewiesen werden konnte.

Aus den dargestellten Untersuchungen resultiren folgende Schlüsse:

1. Das Chorion des Insecteneies enthält kein Chitin, es besteht aus einer eigenthümlichen schwefelhaltigen Substanz (dem Chorionin).

2. Die Eier verlieren während ihrer Entwicklung mehr als 10% ihres Gesammtgewichts.

3. Die entwickelten Eier sind ärmer an Wasser, als die überwinternden.

4. Bei der Entwickelung verlieren die Eier einen Theil ihrer Trockensubstanz.

5. Die tägliche Gewichtsabnahme der Eier geht proportional der morphologischen Differenzirung.

6. Während der Entwickelung verlieren die Eier an unlöslichen Eiweisskörpern, Glycogen, Fett und Cholesterin, gewinnen aber an Lecithin und Peptonen.

Es sei mir hier noch gestattet, Herrn Dr. J. Bolle, Leiter der k. k. Seiden- und Weinbau-Versuchsstation in Görz für das Verschaffen eines beträchtlichen Theiles des Untersuchungsmaterials meinen besten Dank auszusprechen.

Berlin, im März 1885. A. Tichomiroff.

Ueber Trennung des Casein vom Albumin in der menschlichen Milch.

Nachtrag.

Von

F. Hoppe-Seyler.

Die von mir in diesem Bande der Zeitschrift S. 222 gegebene kritische Darstellung sucht Herr Biedert in einer Erwiderung im letzten Hefte der Zeitschrift S. 354 zu entkräften durch einige Redewendungen. Die Behauptung von Herrn Biedert, mit gewissenhafter Genauigkeit sowohl in seinen ersten, wie in den späteren Arbeiten die Leistungen früherer Autoren erwähnt zu haben, ist thatsächlich unrichtig. Die bereits vor seiner ersten Arbeit erschienenen Untersuchungen von Tolmatscheff z. B. sind von Herrn Biedert nicht genannt ausser in der letzten Arbeit, deren unrichtige Angaben mir den Grund zur oben citirten Erklärung gegeben haben. Es ist diese Nichtbeachtung um so auffallender, als bereits die Arbeit von Biedert in Virchow's Arch., Bd. 60, 1874, dem Referenten derselben in Virchow-Hirsch's Jahresbericht Veranlassung gegeben hat, auf Tolmatscheff's Arbeit hinzuweisen.

Wenn nun ferner Herr Biedert am Schlusse seiner Erwiderung die Verdächtigung gegen Tolmatscheff wiederholt, eine ebensolche gegen Makris hinzufügt, ohne die Verhältnisse selbst sorgsam untersucht zu haben, wenn er endlich behaupten will, dass ich nach dem Wortlaut der 4. Auflage meines analytischen Handbuches wenig Vertrauen zu dem Trennungsverfahren von Tolmatscheff bezüglich der menschlichen Milch bewiesen habe, obwohl ich an dieser Stelle sowie sonst nur dies Verfahren für diesen Zweck empfohlen habe (es ist ja auch das einzige bekannte), so kann ich in diesen Aeusserungen nur Redewendungen sehen, die nicht der Wissenschaft dienen, eine weitere Beachtung hier desshalb nicht finden können.

Physiologisch-chemische Literaturübersicht

Zusammengestellt

von

Dr. E. HERTER.

Albertoni. La trasfusione sanguigna e lo scambio materiale. Arch. p. le sci. med., Vol. 6, p. 289.

Alessandri, P. E. Ueber die Reifung der Früchte. La Toscana industriale, Vol. III.

Alexiejew. Absorption der Galle im Darmkanal. I.-D. Petersburg (russ.).

Allihn. Verzuckerung der Stärke durch Schwefelsäure. Zeitschr. d. Ver. f. Rübenzuckerindustrie, 1882, S. 986.

Allihn, F. Bestimmung des Traubenzuckers. Zeitschr. d. Ver. f. Rübenzucker-Industrie 1882, S. 606.

Amidon, R. W. A study of the physiological and toxic effects of glycerine in lower animals. Séguin's Archives of med., Vol. 6, p. 107.

v. Anrep. Ueber den Einfluss verschiedener Arzneimittel auf die Secretion des Magensaftes. Wratsch 1882, Nr. 34.

Arnold, C. Peptonbildung in der Milch. Arch. d. Pharm., Bd. 19, S. 41.

— Neue Farbenreactionen der Alkaloide. Arch. d. Pharm. Bd. 17, S. 561.

Ayres. Zum chemischen Verhalten des Sehpurpurs. Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg, Bd. 2, S. 444.

v. Babo, L. Ueber Wein und Bier. Wider die Nahrungsfälscher, Bd. IV, S. 3.

Balp e Negro. Osservazioni quantitativi sui globuli rossi e sulla emoglobina del sangue nel periodo febbrile di alcune malattie. Giorn. di R. accad. med. Torino, Vol. XLV. p. 603.

Barbsche, C. Nachweis von Glycerin in Wein und Bier. Chem. Centralbl. 1881, S. 208; siehe auch Polyt. Journ. 1882, S. 243, 499.

Barnes, J. B. Antiseptische Eigenschaften der Zimmtsäure. Pharm. journ. and transact. 1881, S. 477.

Barney Sachs. Ueber den Einfluss des Rückenmarks auf die Harnsecretion. Strasburg.

Barth, M. Ueber die hygienische Bedeutung des Trinkwassers und rationelle Principien für dessen Untersuchung und Beurtheilung. Allg. Wien. med. Zeitg., Bd. XXVI, S. 453, 465.

Bauer, E. Ueber die Bildung von Dextran. Zeitschr. f. Rübenzucker-Industrie 1882, S. 883.
— Verlauf der Gährung von Rohrzucker und von Invertzucker. Oesterr.-ungar. Brennereiztg. 1882, Nr. 1.
v. d. Becke, W. Die Milchprüfungsmethoden. Bremen.
Beilstein und Heidenreich. Werthbestimmung von Desinfectionsmitteln. Arch. d. Pharm. 1882, S. 60.
Bell, James. Die Analyse und die Verfälschung der Nahrungsmittel, a. d. Engl. übers. v. Carl Mirus. Berlin.
Bergmann, E. Ueber das Vorkommen der Ameisensäure und Essigsäure und über die physiologische Bedeutung derselben im Stoffwechsel, Forsch. a. d. Geb. d. Agriculturphysik, Bd. 6, S. 145.
Bersch, J. Conservirung von Eiern. Industr.-Bl., Bd. 19, S. 222.
Biedermann, W. Ueber morphologische Veränderungen der Zungendrüsen des Frosches bei Reizung der Drüsennerven. Wien, akad. Sitzungsber., 1882, Bd. III, S. 67.
Biedert. Ueber die für Säuglinge nothwendigen Nahrungsmengen nebst Vorschlägen über Analyse der Milch und des Kothes. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 17, S. 251.
Bieletzki. Zur Frage über die Ursache der Apnoe. Ges. der Naturf., Charkow, Bd. XIV.
Bizzozero. Le piastrine del sangue e la coagulazione. R. Acc. d. Med. di Torino, Vol. XLV, p. 128.
Block, L. Conservirung der Milch durch Erwärmung. Milchzeitung 1882, S. 657.
Böhmer, C. Bestimmung des Amidstickstoffs mittelst salpetriger Säure nach dem Sachsse'schen Verfahren. Landw. Versuchsstat., Bd. 28, S. 235.
— Bestimmung der Ammoniakgehaltes der Pflanzen nach Schlösing. Ibid., S. 251.
Bollinger, O. Ueber Kindermilch und den Einfluss der Nahrung auf die Beschaffenheit der Kuhmilch. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 17, S. 333.
Bonnet. Die Uterinmilch und ihre Bedeutung für die Frucht. Beitr. z. Biologie, Stuttgart.
Bouchard. Maladies par ralentissement de la nutrition. Cours de pathologie générale.
— De l'origine intestinale de certains alcaloides. Rev. de méd. 1882, p. 825.
Branly. Dosage de l'hémoglobine par les procédés optiques. Thèse, Paris.
Bredat. Conservirung der Milch durch Erwärmung. Industrie-Blätter, Bd. 19, S. 367.
Briem, H. Die Zuckerproduction und die Qualitätsverbesserung in der Zeit des Wachsthums der Zuckerrübe. Prag. landw. Wochenbl. 1882, Nr. 13.
Brücke. Ueber die Nachweisung von Harnstoff mittelst Oxalsäure. Sitzungsber., Wien, Akad. d. W., Bd. 85, Abth. III, S. 280.
Buddel, F. Ueber den Atropingehalt der Radix Belladonnae. Arch. d. Pharm., Bd. 17, S. 414.

Büchner. Ein Beitrag zur Lehre von der Einwirkung des Alkohols auf die Magenverdauung. Wien. med. Wochenschr., Bd. **XXXI**, S. 1321.

Bufalini. Azione peptonizzante dei bacterii. Giorn. internaz. sci. med. 1882, p. 206.

Busse. Wasserstoffsuperoxyd zur Conservirung von Milch und Butter. Centralbl. f. Agricult-Chem., Bd. **11**, S. 789.

Camerer, W. Die künstliche Ernährung der Säuglinge. Arch. f. Kinderheilk., Bd. **II**, S 447.

Cameron, C. A. Resultate der Milchanalysen von 42 Kühen. Analyst., Bd. **6**, S. 75.

Capranica. Le reazioni dei pigmenti biliari. Atti d. R. accad. de Lincei 1882, S. 19.

Capranica e Colasanti. L'azione dell' acqua ossigenata sull' organismo. Rom.

Carrick, G. L. Ueber den Kumys. Forsch. a. d. Geb. d. Viehhalt., H. 12.

Casali. Sui principii basici delle materie animali putrefatte. Annal. univers. di med. 1882, p. 38.

Charcot. Leçons sur les conditions pathogéniques de l'albuminurie, recueillies par E. Brissaud, 1881.

Chichkoff, L. Ueber die chemische Zusammensetzung der Milch. Bull. soc. imp. des nat. de Moscou, Vol. **LV**, p. 141.

Chittenden. Ueber die Entstehung von Hypoxanthin aus Eiweissstoffen. Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg, Bd. **II**, H. 4, S. 424.

Chittenden and Ely. Influence of peptones and certain inorganic salts on the diastatic action of saliva. Amer. chem. jl, Vol. **IV**, p. 107.

Chludsinsky. Eine Methode, die Güte der Milch durch Abwägen zu bestimmen. Landw. Jahrb. 1882, S. 835.

Chmelik, L. Mittel zúr Beschleunigung des Keimens von Samen. Prager landw. Wochenblatt 1882, Nr. 53.

Christensen, A. Ueber Quassiin. Arch. d. Pharm., Bd. **17**, S. 481.

Cleaver, L. und Williams, W. Ueber Aconitum paniculatum. Pharm. journ. and transact. 1882, p. 722.

Colasanti. Cambiamenti di forma dell' acido urico per l'azione della glicerina. R. accad. med. di Roma 1882.

— Studi ulteriori sui pigmenti biliari Bull. d. r. accad. med. Roma, Ann. **VIII**, Nr. 3.

Combret. Principales méthodes d'administration du mercure par la peau. Thèse, Paris.

Da Costa Alvarenga. Des médications hypothermiques et hyperthermiques. Gaz. méd. 1882, p. 482.

Councler, C. Aschenanalyse der einzelnen Theile von Aster Amellus. Landw. Versuchsstat., Bd. **27**, S. 375.

Conrad, F. Die Untersuchung der Frauenmilch für die Bedürfnisse der ärztlichen Praxis. Arch. f. Kinderheilk., Bd. **II**, S. 169.

Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Filtration von Eiweisslösungen durch thierische Membranen.*)

Von

Dr. Adolf Lœwy.

(Aus dem Laboratorium des Herrn Privatdocent Dr. Herter in Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 20. April 1885.)

Die Lehre von der Filtration der Flüssigkeiten durch thierische Membranen ist eine noch ziemlich junge, und die Gesetze, welche ihr zu Grunde liegen, sind im Verhältniss zu dem Interesse, das sie von physikalischem und physiologischem Gesichtspunkte bieten, uns durchaus noch nicht hinreichend bekannt.

Abgesehen von den Versuchen, die von Valentin[1]), Hoppe-Seyler[2]), Wittich[3]), Funke[4]), ferner von Eckhard[5]), seinem Schüler Markus[6]) und H. Nasse[7]) mitgetheilt wurden, verdanken wir W. Schmidt[8]) zwei grössere, in Poggendorff's Annalen veröffentlichte Versuchsreihen über die Menge und Beschaffenheit des Filtrats je nach Druck, Concentration, Zusammensetzung und Temperatur der ursprünglichen Flüssigkeit. Schmidt, der die Sache von der rein physikalischen Seite angriff, benutzte für seine Versuche ausser reinem Wasser Salzlösungen und Gemische von solchen, fügte aber auch einige Beobachtungen über die Filtration von Gummi- und Eiweisslösungen hinzu.

Die Untersuchungen über diesen letzteren Gegenstand wurden nun neuerdings wieder aufgenommen von Rune-

*) Nach der Inauguraldissertation des Verfassers, Berlin, 25. April 1885.

berg[9]), der in einer grossen Anzahl von Experimenten die Einflüsse verschiedener Faktoren auf den Gang der Filtration festzustellen suchte. Die gewonnenen Resultate versuchte dieser Forscher in Beziehung zu setzen zu physiologischen resp. pathologischen Erscheinungen.

Ein Faktor nun aber ist es, der in allen bisher über Filtration erschienenen Arbeiten, den älteren, sowie den neuesten, keine oder nur geringe Berücksichtigung gefunden hat, sei es, dass man seinen Einfluss überhaupt übersah, sei es, dass man ihn durch zweckmässige Anordnung der Versuche für die vergleichende Betrachtung überhaupt eliminirte, das ist die Temperatur und ihre Einwirkung auf Quantität und Qualität des Filtrates.

Und doch, glaube ich, ist dieser Faktor kein allzu gering zu veranschlagender.

Auf den Rath des Herrn Prof. Senator hin unternahm ich es nun, speciell für Eiweisslösungen den Einfluss, welchen die Temperatur auf die Filtration ausübt, näher zu untersuchen, zumal man hier die Hoffnung hegen konnte, neben den rein physikalischen Resultaten gewisse nähere Aufschlüsse über eine der Ursachen von mehr oder weniger den Gesetzen der Filtration folgenden Erscheinungen aus der Pathologie zu erlangen, ich meine der Bildung von Transsudaten oder Exsudaten und vielleicht auch der febrilen Albuminurie.

Was ich über diesen Gegenstand in der Literatur fand, das beschränkt sich im Grunde genommen auf eine Versuchsreihe, die W. Schmidt[8]) in der zweiten seiner beiden oben angeführten Arbeiten mittheilt. Schmidt untersuchte freilich mit Gummilösung, aber ich möchte kein Bedenken tragen, seine Resultate direkt auf Eiweisslösung zu übertragen, da ja beide nicht nur in ihren sonstigen Eigenschaften wesentlich übereinstimmen, sondern auch erst kürzlich noch ihr völlig gleiches Verhalten bei der Filtration in Beziehung zum Druck von Runeberg gezeigt wurde.

Was nun die Resultate betrifft, zu denen Schmidt in seinen mit dem Herzbeutel vom Rinde als Filtrations-

membran angestellten Versuchen gekommen ist, so sind das hinsichtlich der Wirkung der Temperatur die folgenden: Die Filtratmenge steigt unter sonst gleichen Umständen mit steigender Temperatur, der relative Procentgehalt ist jedoch bei höherer Temperatur kleiner als bei niederer.

Ob Schmidt's Resultate als vollkommen feststehend zu betrachten sind, das ist mir freilich zweifelhaft, Schmidt giebt nämlich nichts über die Dauer seiner Versuche an, man weiss daher nicht, wie lange er seine Membranen dem Druck ausgesetzt hatte vor denjenigen Versuchen, die er verglich; ein Punkt, der nach Runeberg's Untersuchungen zu bedenklichen Trübungen in der Genauigkeit der Resultate führen kann. Schmidt bestimmte auch nicht immer die Menge des Filtrats und die absoluten Werthe der filtrirten festen Bestandtheile, sondern stellte meist den Procentgehalt nur fest nach dem specifischen Gewicht, verglichen mit dem der ursprünglichen Lösung. Ausserdem wechseln, worauf schon Runeberg aufmerksam macht, «bei den einzelnen Versuchen sämmtliche Faktoren nach verschiedener Richtung, Druck, Temperatur, Concentration....» Endlich vergleicht Schmidt in der einen von ihm angeführten Reihe Beobachtungen, die er an drei verschiedenen Tagen angestellt hat. — Aus den Befunden schon der früheren Untersucher, wie auch nach dem, was ich selbst beobachtete, steht aber fest, dass die Durchlässigkeit thierischer Membranen durchaus nicht constant ist, dass sie vielmehr bedeutendem Wechsel unterworfen ist, selbst wenn man versucht hat, die Membranen unter genau denselben äusseren Verhältnissen zu erhalten, dass die Qualität sowohl wie die Quantität des Filtrats sich zu verschiedener Zeit verschieden herausstellen, letztere so, dass man zuweilen die drei- bis vierfache Menge als zu anderer Zeit erhält. Unter den verschiedenen, uns nur ungenügend bekannten Faktoren, welche hierbei eine Rolle spielen, nimmt meines Erachtens die mehr oder minder grosse Trockniss resp. der Grad der Quellung der Membran einen ziemlich hervorragenden Platz ein, und ich glaube, dass gewisse Abweichungen, welche ich

bei einzelnen meiner Versuche zu verzeichnen habe, auf sie zurückgeführt werden müssen.

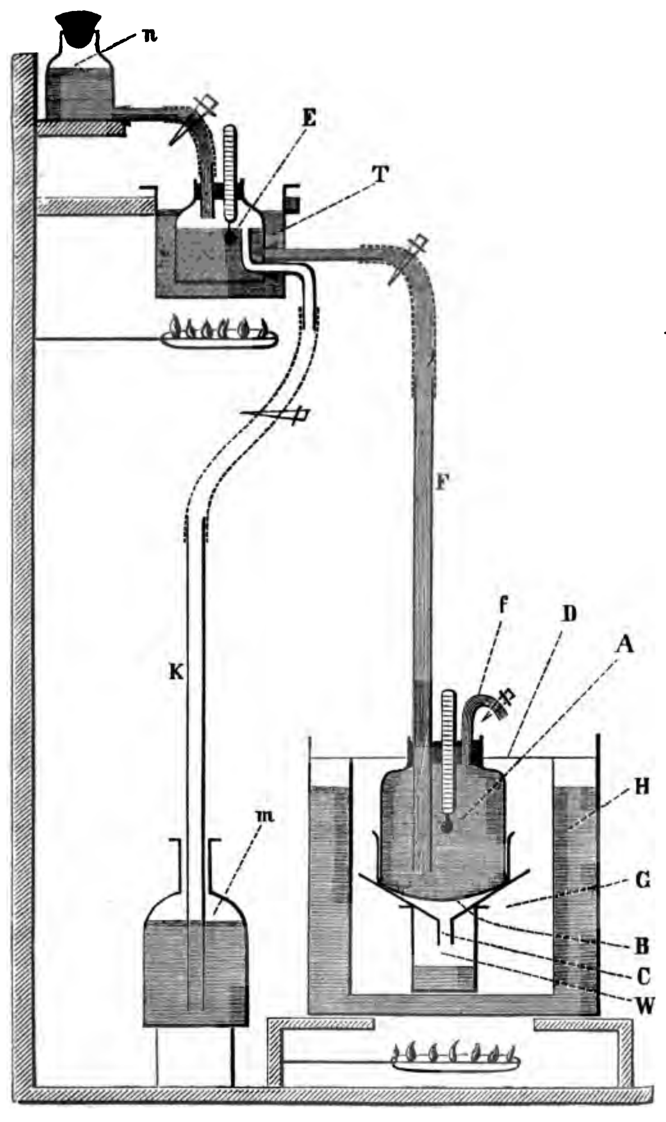
Dies soll bei den einzelnen Versuchen näher erörtert werden (cf. Versuch 5, 11, 7).

Runeberg[9]) und nach ihm Gottwalt[10]), denen wir wie schon erwähnt, die neuesten Arbeiten über Filtration durch thierische Membranen verdanken, beschäftigen sich in ihren Versuchen fast nur mit der Feststellung des Einflusses, den eine Aenderung des Druckes hervorruft, und berücksichtigen die Temperatur nur insofern, als sie alle Versuche bei dem möglichst gleichen Wärmegrade anstellen, um also eine Fehlerquelle, die ihnen möglicherweise erwachsen könnte, sicher auszuschliessen.

Bei meinen Untersuchungen, die ich im Laboratorium des Herrn Dr. Herter anstellte, kam es mir vor Allem darauf an, in der Anordnung und Folge der Versuche Verhältnisse herzustellen, welche durch Ausschluss aller fremden Faktoren den Einfluss der Temperatur möglichst rein zu beobachten gestatteten. Ich bediente mich dabei des folgenden, von Herrn Dr. Herter construirten Filtrations-Apparates, den die Abbildung schematisch darstellt, ohne das natürliche Grössenverhältniss der Theile wiederzugeben.

Als Filtrationszelle dient ein oben und unten offenes Glasgefäss A, dessen eine, weitere Oeffnung mit der mittelst Bindfadens festgebundenen Filtrations-Membran B überspannt, in einen Glastrichter C taucht, welcher dem zum Auffangen des Filtrats dienenden Wägeglas W aufsitzt. A ist oben mit einem dreifach durchbohrten Cautschukstöpsel geschlossen, durch dessen eine Bohrung das die Flüssigkeit aus dem Reservoir E zuleitende Rohr F hindurchgeht, dessen zweite ein Thermometer trägt, durch dessen dritte das rechtwinklig gebogene, mit einem Quetschhahn versehene Rohr f hindurchführt, welches nur bis zur concaven unteren Stöpselfläche reicht und ein schnelles und völlig luftleeres Füllen des Apparates mit Leichtigkeit zulässt. Die Filtrationszelle A ist, wie es die Figur zeigt, in ein grösseres Glasgefäss G eingesenkt, welches durch den, den Hals der Zelle A fest um-

fassenden Deckel D geschlossen ist und seinerseits von einem dritten fast gänzlich mit Wasser gefüllten Gefässe H umgeben



ist. Die als Reservoir dienende, tubulirte Flasche E ist zugleich bestimmt, den Druck sowohl während jedes einzelnen

Versuches, als auch für die ganze Versuchsreihe constant zu erhalten. Zu diesem Zwecke ist sie von dem Rohre K durchbohrt, das die Höhe des Flüssigkeitsspiegels dadurch unveränderlich erhält, dass es die etwa überschüssige Flüssigkeit, welche aus Flasche N zum Ersatz für die hindurchfiltrirte herabtropft, in das Glas M abfliessen lässt. Auch das Reservoir E befindet sich in einem mit Wasser gefüllten Troge T. Für die Versuche bei höherer Temperatur kann sowohl E als auch die Zelle A durch regulirbare Gasflämmchen bis zu dem beabsichtigten Wärmegrade erhitzt werden.

Ein Nachtheil, den der so zusammengesetzte Apparat bietet gegenüber den im Principe übereinstimmenden von Schmidt[11]) und von Runeberg[12]) für ihre Versuche benutzten oder dem von Hoppe-Seyler[18]) angegebenen und von Gottwalt[10]) in Gebrauch gezogenen, könnte darin gefunden werden, dass ich meine Versuche mit einer ruhenden Flüssigkeitssäule anstellte, also einer Methode folgte, welche seiner Zeit Valentin anwandte, gegen die aber schon Schmidt einwarf, dass dabei im Laufe und in Folge des Versuches selbst Aenderungen in der Beschaffenheit der untersten Flüssigkeitsschichten sich einstellen.

Es kann nicht geleugnet werden, dass theoretisch dieser Einwand seine Berechtigung haben mag, für die Praxis aber scheint er mir ziemlich hinfällig zu sein. Den Nachtheilen, welche sich ergeben konnten, glaube ich entgegengetreten zu sein, ausser durch die Grösse der Zelle selbst, erstens durch die ziemlich bedeutende Oberfläche der Filtrationsmembran, die 41,85 qcm. betrug, sodann durch die verhältnissmässig kurze Dauer der Versuche, drittens dadurch, dass durch das zuleitende Rohr neue Flüssigkeit direkt bis gegen den Boden der Zelle geführt wurde.

Ob übrigens durch das Vorbeiströmen der Flüssigkeit an der Membran, das ja wenigstens bei Runeberg's Versuchen «bald schneller, bald langsamer» in den einzelnen Versuchen geschah, und wobei dem Wandstrom, auf den es ja hauptsächlich ankommt, sicher immer nur eine geringe Geschwindigkeit mitgetheilt wurde, ob, meine ich, dadurch

die Qualität der Filtrationsflüssigkeit die gleiche blieb, ist mir eigentlich ebenso zweifelhaft, wie Schmidt selbst, der, obgleich er sich eines ähnlichen Apparates bediente, doch bemerkt: «ob mit dem Abfliessen der Flüssigkeit der Zweck erreicht wurde, die Flüssigkeit über der Membran bei gleicher Concentration zu erhalten, ist mir sehr zweifelhaft»[14]).

Ausserdem bewogen gewisse praktische Rücksichten mich, den in vorbeschriebener Weise gestalteten Apparat zu benutzen, unter welchen die auf die Constanz der Temperatur bezüglichen die hauptsächlichsten sind. Wollte ich den von Runeberg angegebenen Apparat in Gebrauch ziehen, so hätte ich nicht nur den Filtrationsapparat und das Reservoir, sondern auch den ganzen übrigen Apparat, in specie die von letzterem zu ersterem führenden Röhren vollständig mit einem Wassermantel umgeben müssen, und auch dann wäre es mit Schwierigkeiten verbunden gewesen, nicht nur die Temperatur constant zu erhalten, sondern sie überhaupt zu messen.

Da jeder Versuch, um vergleichbare Resultate zu haben, aus mehreren — mindestens zwei — Einzelversuchen (ich will sie als Abtheilungen eines Versuches bezeichnen) bestehen musste, ich aber, um das Filtrat zu erhalten, nach jedem einzelnen den Apparat auseinanderzunehmen, vor dem nächsten ihn zusammenzufügen genöthigt war, so musste zwischen je zwei Versuchen eine Frist liegen, während deren ich übrigens in jedem Falle die Membran unter die gleichen Verhältnisse zu bringen mich bemühte. Ein gewisses Zeitintervall zwischen den einzelnen Abtheilungen war aber, abgesehen von dieser Ursache, die im Apparate liegt, durch die Sache selbst bedingt, da die Temperaturerhöhung resp. -Erniedrigung stets eine gewisse Zeit erforderte. Dies hätte sich bei keinem Apparate vermeiden lassen.

In Uebrigen scheint mir aber der Apparat Alles zu leisten, was die Sache verlangt. Auf welche Weise der Druck während der einzelnen Versuche constant erhalten wurde, ist schon angeführt; da aber an der Stellung des oberen Reservoirs nie etwas geändert wurde, auch die Zelle stets in dem-

selbcn Niveau eingestellt wurde, so kann der Druck wohl als constant für alle Versuche bezeichnet werden.

Was die Temperatur betrifft, so gelang es mir dadurch, dass ich nach der Zusammenstellung des Apparates erst dann die Füllung der Zelle vornahm, wenn deren Luft ziemlich die für die einzufüllende Flüssigkeit beabsichtigte Temperatur angenommen hatte, es dahin zu bringen, dass die Flüssigkeit in der Zelle um einen, höchstens zwei Grade Celsius sich in ihrem Wärmegrade von dem des Reservoirs unterschied, ein Wärmegrad, der in Folge des umgebenden Wassermantels innerhalb der Versuchsdauer — abgesehen von den ersten, noch unvollkommenen — bei allen Versuchen ganz constant blieb oder doch nur um $^1/_2$—1° C. sank.

Auf einen Punkt nahm ich bei den Versuchen mit höherer Temperatur ganz besondere Rücksicht, das ist der Einfluss, den die Verdunstung auf die Filtratmenge, und demzufolge deren relative Concentration nehmen konnte. Bei jedem Versuche, bei dem die Möglichkeit, dass dies eintreten könnte, vorlag, wurde die innere Fläche des die Zelle A aufnehmenden Gefässes G mit Bäuschen nassen Filtrirpapieres ausgelegt, und ebenso wurde die untere, der Filtrationszelle zugekehrte Fläche des Deckels D mit Lagen feuchten Filtrirpapiers versehen, die bis über den Rand von G hinausreichten und so einen ziemlich sicheren Verschluss gegen die Verdunstung nach aussen abgaben. Schliesslich wurde auch die obere Fläche des Deckels dicht mit nassen Papierbäuschen belegt.

Um aber ganz sicher zu sein, dass diese Cautelen ausreichten, stellte ich — an verschiedenen Tagen — zwei Controllversuche an, deren Resultate ich hier gleich mittheilen will.

Diese Versuche bestanden darin, dass ich einmal das zum Versuche benutzte Serum analysirte und die sich ergebenden Werthe verglich mit denen, welche ich erhielt, wenn ich anstatt die auf 40° erwärmte Flüssigkeit durch die Membran hindurchfiltriren zu lassen, sie einfach aus dem Ende des zuleitenden Rohres F so langsam heraustropfen liess, dass ich in einer den übrigen Versuchen entsprechenden Zeit un-

gefähr die gleiche Flüssigkeitsmenge erhielt. Den zweiten Controllversuch suchte ich übrigens den sonstigen Filtrationsversuchen noch ähnlicher zu gestalten, dadurch dass ich die Zelle statt mit einer Membran mit einem durchbohrten zweiten Korke schloss und nun langsam die Flüssigkeit, deren Temperatur man hier direkt ablesen konnte — während vorher die im Raume herrschende Lufttemperatur gemessen wurde —, abtropfen liess. Ich erhielt folgende Werthe:

Controllversuch I:

	a) Serumprobe:	b) herabgetropfte Flüssigkeit:
Menge	7,881 gr.	6,821 gr.
fester Rückstand . .	0,667 gr. = 8,463 %	0,579 gr. = 8,488 %
anorganisches . . .	0,075 gr. = 0,957 %	0,063 gr. = 0,923 %
organisches	0,582 gr. = 7,506 %	0,516 gr. = 7,564 %

Die Differenz der Gesammtrückstände ist also 0,025 %. Dieser Werth ist der zuverlässigste der drei angeführten, weil er der am schnellsten und durch die wenigsten Manipulationen gefundene ist, Beobachtungsfehler also hier am ehesten auszuschliessen sind. Dass die Werthe für die organische Materie allein in etwas weiteren Grenzen liegen, erklärt sich durch den Befund der correspondirenden anorganischen Stoffe.

Controllversuch II ergab Folgendes:

	a) Serumprobe:	b) herabgetropfte Flüssigkeit:
Menge	6,791 gr.	4,3925 gr.
fester Rückstand . .	0,544 gr. = 8,158 %	0,358 gr. = 8,147 %
anorganisches . . .	0,047 gr. = 0,693 %	0,0305 gr. = 0,692 %
organisches	0,507 gr. = 7,465 %	0,3274 gr. = 7,455 %

Hier ist die Differenz der Gesammtrückstände nur 0,011 %, aber während bei Versuch I die Serumprobe weniger concentrirt war, ist sie hier concentrirter.

Ich glaube, dass man bei Betrachtung der Resultate schon jedes einzelnen Versuches dem Apparate eine hinreichende Genauigkeit im Punkte der Verdunstung nicht absprechen kann, zumal sich in den Filtrationsversuchen selbst

die Differenzen als weit grösser erweisen und oft bis 0,6% steigen. Vergleicht man aber beider Versuche Resultate mit einander, und beachtet man, dass im ersten Tropfversuche die Flüssigkeit concentrirter, im zweiten weniger concentrirt ist, so wird man noch weniger einen Fehler im Apparate annehmen, diese Differenzen vielmehr für Fehler der Beobachtung gelten lassen, da hier die hundertstel Procente der relativen Werthe den bei Feststellung der absoluten Werthe gefundenen Milligrammen entsprechen.

Bevor ich nun dazu übergehe, die Versuche und deren Resultate selbst zu beschreiben, will ich noch einige Worte über die Methode, nach welcher ich verfuhr, um die einzelnen Werthe zu finden, hinzufügen.

Das aufgesammelte Filtrat wurde sofort in demselben Gefässe, einem kleinen leichten ca. 30—35 gr. fassenden Wägegläschen mit geschliffenem Deckel, gewogen, sodann unter den nöthigen Vorsichtsmassregeln in einen Porzellantiegel geschüttet, zur Trockniss verdampft, der Trockenrückstand 1—1½ Stunde im Trockenofen bei 120° C. belassen und, nachdem er im Exsiccator erkaltet war, gewogen. Zu grösserer Genauigkeit wurde er noch einmal für 1—1½ Stunde in den Trockenofen gebracht und noch einmal gewogen; der kleinere von beiden Werthen — wenn überhaupt sich ein Unterschied ergab — wurde zur weiteren Berechnung benutzt. — Dieser Gesammtrückstand wurde nun vollkommen verkohlt, aus dem Kohlenrückstande die anorganischen löslichen Stoffe mit Wasser ausgezogen und nun die Kohle, die noch geringe Mengen unlöslicher Stoffe enthielt, bei hoher Temperatur verascht, bis der Tiegelinhalt vollkommen weiss gebrannt war. Nachdem nun die Lösung der anorganischen Substanzen hinzugefügt war und gleichfalls zur Trockniss abgedampft, wurde eine neue Wägung des Tiegels vorgenommen, welche mir das — durch vorherige Wägung bekannte — Gewicht des Tiegels, vermehrt um das Gewicht der anorganischen Substanzen, angab. Durch Subtraktion dieses Werthes von dem zuvor gefundenen, den Gesammtrückstand angebenden, erhielt ich

den Werth für die organische Substanz allein.*) — Aus diesen absoluten Werthen, verglichen mit der Menge des Filtrats, wurden nun die procentischen berechnet.

Der Beginn und das Ende eines jeden Versuches wurden genau verzeichnet, ebenso die Zeit, welche zwischen je zwei Abtheilungen desselben Versuches verstrich, während welcher die aufgebunden bleibende Membran vom Druck entlastet, aber vom Serum umspült, also immer völlig durchfeuchtet war. Um diesem letzten Erfordernisse sicher zu genügen, liess ich gewöhnlich zu Beginn eines Versuches die Filtration erst 15′ vor sich gehen, ohne die filtrirte Menge weiter zu berücksichtigen, und begann die Berechnung erst mit der nächsten Portion.

Als Membran diente durchweg getrocknete Schweinsblase, die erst in Wasser, dann in Serum erweicht wurde, und von deren Unverletztheit ich mich jedesmal überzeugte. Versuche, welche ich mit anderen Blasen machte, führten zu keinem befriedigenden Resultate, da sich meist undichte Stellen fanden, entweder weil die Membran den Druck nicht aushielt, oder in Folge allzu ungleichmässiger Anordnung der Muskelfasern, die an manchen Stellen weite Lücken zwischen sich liessen, aus denen dann die Flüssigkeit ziemlich schnell heraustropfte.

Jede Membran wurde mindestens für alle Abtheilungen eines Versuches benutzt, um für diese dieselbe Spannung der Membran annehmen zu können, zuweilen benutzte ich

---

*) Dass diese «organische Substanz» sich im Wesentlichen mit dem Begriff «Eiweiss» deckt, geht aus folgendem Versuch hervor, in welchem für verdünntes Serum und für das daraus erhaltene Filtrat erstens die organische Substanz wie oben angegeben und zweitens das Eiweiss nach Hoppe-Seyler's Handbuch der Analyse, 5. Aufl. S. 423, durch Ausfällen mit Alkohol bestimmt wurde. Ich erhielt:

für das Serum 1) 2,879 % und 2) 2,866 %,
für das Filtrat 1) 2,506 % und 2) 2,495 %.

Bei letzterer Bestimmung wurde der Eiweissniederschlag verascht; nach Abzug der Asche berechnete sich der Eiweissgehalt des Filtrats auf 2,4715 %.

aber auch dieselbe Membran für mehrere Versuche. Ich liess sie dann gewöhnlich aufgespannt trocknen und erweichte sie vor dem Wiedergebrauch erst mit Wasser, dann mit Serum und setzte sie darauf eine Zeit lang dem Drucke aus, bevor ich den neuen Versuch begann.

Der Druck betrug in allen Versuchen 84,3 cm. der Filtrationsflüssigkeit, die Grösse der Filtrationsfläche $= r^2 \pi = 3{,}65^2 \pi = 41{,}85$ qcm.

Nach einigen mehr oder minder rohen Vorversuchen, die weniger der Sache selbst als der Prüfung des Apparates galten, begann ich meine Untersuchungen, die sich zuerst nur auf die Mengenverhältnisse des Filtrats und auf die absoluten Werthe der in ihm sich findenden festen Bestandtheile bezogen, bei wechselnder Temperatur der filtrirenden Lösungen.

Was die Mengen des Filtrats betrifft, so waren diese bei höherer Temperatur constant grösser als bei niedriger; es nimmt zweifellos die filtrirende Wassermenge bei höherer Temperatur zu. Aber ebenso wie die Quantitäten des Filtrats, stiegen und fielen auch bei zu- resp. abnehmender Temperatur die Mengen der Gesammtrückstände und, was festzustellen besonders mich interessirte, der in ihnen enthaltenen organischen Substanzen.

Ich gebe zunächst die Resultate derjenigen Versuche, bei welchen ich grosse Temperaturdifferenzen nahm, wobei ich bemerken will, dass die Versuchsnummer sich auf die zeitliche Reihenfolge der Versuche bezieht.

Vorversuch: d. 27./II. 85. Membran: getrocknete Schweinsblase, erweicht. Filtrationsflüssigkeit: verdünntes, filtrirtes Blutserum. Fest. Rückstand: 2,366%, organ.: 2,083%, anorgan.: 0,283%.

	Temp.	Dauer.	Fitratmenge.	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	15° C.	3¼ Std.	10,652 gr.	10,428	0,224	0,191	0,033
b)	25—22½	2¾ »	12,698 »	12,448	0,25	0,2498	0,04

Versuch 2 d. 3./III. Membran: die vorige, ruhte 16 Std.; war getrocknet; erweicht. Serum: dasselbe.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wasser-menge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	35½°	1 Std. 45′	15,9755	15,6505	0,325	0,283	0,042
b)	16¼°	1 » 45′	8,8345	8,6610	0,1735	0,135	0,0385

Versuch 3 d. 5./III. Membran: frische, getrocknete Schweinsblase, erweicht, unter Druck gesetzt. Serum: dasselbe.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wasser-menge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	15°	¾ Std.	2,91	2,841	0,070	0,058	0,012
b)	36—37°	¾ »	10,9095	10,6565	0,253	0,214	0,039

Versuch 4 d. 7./III. Membran: neue, getrocknete Blase: wie die vorige behandelt. Serum: dasselbe.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wasser-menge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	15°	35′	?	?	0,0730	0,0565	0,0165
b)	37- 36°	35′	6,0065	5,8085	0,198	0,116	0,082

Versuch 5 d. 9./III. 85. Membran: die vorige, hat 33 Std. geruht, getrocknet; Serum: frisches mit fest. Rückstand: 2,323%, organ.: 2,1%, anorgan.: 0,223%.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wasser-menge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	33° C.	30′	9,385	9,1925	0,1905	—	—
b)	20° C.	30′	17,026	16,7195	0,3065	0,2725	0,034
c)	38° C.	30′	31,7095	30,9790	0,7305	0,6365	0,0940
d)	21¼° C.	30′	12,2195	12,0785	0,141	0,126	0,015

Wie ersichtlich, ergiebt Abtheilung a des letzten Versuches, trotzdem hier die Temperatur um 13° höher liegt als in Versuch b, doch Werthe, welche fast um die Hälfte kleiner sind, als die in Versuch b.

Hier glaube ich die Berechtigung zu haben, die Trockniss der Membran beim Versuch a zur Erklärung heranzuziehen, zumal da ich die Membran, die übrigens noch nicht ganz getrocknet war, als ich den Versuch anstellte, nicht so lange wie gewöhnlich erweichte. Dass nicht der Druck, dem diese Membran, wie alle vor dem ersten Versuche ausgesetzt war, dafür verantwortlich zu machen ist, dafür scheinen mir die Resultate der bisherigen Versuche, bei denen dieselbe

Versuchsanordnung herrschte, zu sprechen, speciell Versuch 2, bei dem auch zuerst hohe, dann niedrigere Temperatur angewandt wurde, und ich doch zuerst 15 gr. und dann 8 gr. Flüssigkeit erhielt; ausserdem Versuch 7, dessen erste Abtheilung gerade mit Rücksicht auf dies Ergebniss in seiner Anordnung variirt wurde. Möglich übrigens, dass bei Abtheilung d des fünften Versuches sich der Druck, unter dem die Membran sich 90′ — freilich mit Unterbrechung — befand, schon etwas geltend macht, denn das Weniger an Flüssigkeit und fester Substanz beträgt doch hier bedeutend mehr, als unter denselben Verhältnissen die Zunahme zwischen b und c. Ich würde hiermit der zuerst von Eckhard aufgestellten, zuletzt besonders von Runeberg vertheidigten Anschauung folgen, dass Belastung die Membran weniger permeabel macht, einer Anschauung, mit welcher wohl nur Schmidt's Resultate in Widerspruch stehen.

Versuch 6 d. 12./III. 85. Membran: neue, getrocknete, erweichte Schweinsblase. Serum: das vorige.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	15° C.	30′	1,65 gr.	—	—	—	—
b)	33¾° C.	30′	5,1715 gr.	5,0590	0,1125	0,098	0,0145
c)	24—25° C.	30′	4,1035 gr.	4,0150	0,0885	0,0755	0,013

Bei den nächsten beiden Versuchen, die ich mit grösseren Temperaturdifferenzen anstellte, verwandte ich Eiereiweiss, um auch für dieses den Einfluss der Temperatur festzustellen.

Versuch 9 d. 19./III. 85. Membran: Schweinsblase, die schon für einen Versuch (8) benutzt wurde; wird wie früher zum Versuch vorbereitet. Filtrationsflüssigkeit: Eiereiweisslösung mit 2,305% Gesammtrückstand; organ.: 2,190%; anorg.: 0,105%.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	15°	25′	4,0025	3,9325	0,07	0,058	0,012
b)	25°	25′	4,914	4,817	0,097	0,092	0,005
c)	25°	25′	4,5275	4,4345	0,093	0,085	0,008
d)	32½°	25′	5,1395	5,0380	0,1015	0,095	0,0065

Versuch 10 d. 21./III. 85. Membran: die im vorigen Versuch benutzte. Filtrationsflüssigkeit: dieselbe Eiereiweisslösung.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	15°	30′	2.7715	2,7220	0,0495	0,043	0,0065
b)	32½°	30′	5.9535	5,8450	0,1085	0,0995	0,009
c)	39°	30′	6,245	6,131	0,114	0,1025	0,0115

Alle folgenden Versuche stellte ich wiederum mit Blutserum an.

Versuch 11 d. 24. III. Membran: die in den vorigen Versuchen benutzte Schweinsblase. Filtrationsflüssigkeit: frisches, filtrirtes, unverdünntes Blutserum mit 8,810% Gesammtrückstand, 7,901% organischen und 0,908% anorganischen Bestandtheilen.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	13°	30′	3,495	3,229	0,266	0,233	0,033
b)	30°	30′	9,0485	8,3395	0,709	0,645	0,064
c)	41—40½°	30′	7,6950	—	—	—	—
d)	38½°	30′	9,8705	—	—	—	—
e)	27½°	30′	7,453	—	—	—	—

Der Versuch c bietet in der Folge der Versuche, wie ich sie hier eingehalten habe, den zweiten Fall dar, wo sich bei höherer Temperatur eine Verminderung der Menge herausstellt, und jedenfalls ist auch hier die Trockniss dafür verantwortlich zu machen: Zwischen je zweien der 5 Abtheilungen lag ein Zeitraum von ca. 20′, während dessen die Membran wie gewöhnlich entlastet war; jedoch hatte ich verabsäumt, vor dem dritten Versuche die Zelle in gehöriger Weise in Serum hineinzusetzen. Zur Controlle machte ich nun noch die Mengenbestimmungen von zwei Versuchen d und e, welche die gewöhnlichen Resultate ergaben.

Versuch 13 d. 1./IV. 85. Membran: neue getrocknete Schweinsblase, wie bisher behandelt; Filtrationsflüssigkeit: Blutserum verdünnt 1 : 2 aqua.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	15°	30′	0,4855	0.4745	0,011	0,008	0,003
b)	31°	30′	1,4585	1,4175	0,0410	0,034	0,007
c)	40°	30′	2,211	2,148	0,063	0,056	0,007

Die Quantitätsdifferenzen, welche so bedeutende Temperaturunterschiede, wie ich sie mit Absicht für diese Versuche verwendete, bewirken, treten trotz der unvermeidlichen Störung, welche durch wechselnde Zustände der Membran bedingt sind, deutlich hervor. Um aber zu sehen, ob auch kleinere Temperaturdifferenzen gleichfalls schon Unterschiede hervorrufen, stellte ich die folgenden Versuche mit 5° C. Differenz an, hielt mich dabei übrigens aus besonderen, später zu erörternden Gründen zwischen ca. 37° und 42° C.

Versuch 7 d. 13./III. 85. Membran: frische, getrocknete Schweinsblase, nicht ganz erweicht, nicht zuvor unter Druck gesetzt. Serum: 2,323% Gesammtrückstand, 2,1% organ., 0,223% anorgan. Rückstand.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wasser-menge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	40°	20'	4,9745	—	—	—	—
b)	37½°	20'	5,998	5,859	0,139	0,123	0,016
c)	42½°	20'	6,645	6,4926	0,1515	0,1385	0,013

Auf die Abtheilung a dieses Versuches wurde schon bei Besprechung des Versuches 5 hingewiesen.

Es ist dies nämlich der dritte Fall, in welchem ich trotz höherer Temperatur eine kleinere Filtratmenge erhalten habe. Aber hier geschieht dies nicht zufällig, vielmehr sind die Bedingungen, unter welchen die Abtheilung a vor sich geht, derart gewählt, dass ein eventueller Einfluss der Trockniss, auf den Versuch 5 und 11 mit Wahrscheinlichkeit hinweisen, sicher festgestellt werden kann. Ein gewisser Grad von Trockniss wurde mit Absicht bestehen lassen, während jeder Einfluss des Druckes als ausgeschlossen erachtet werden muss, und doch sehen wir trotz der Temperaturerniedrigung im Versuch b die Menge von 4,9 auf 5,9 steigen, also fast um 25%.

Um dem Einwande zu begegnen, dass vielleicht auch die Steigerung zwischen Versuch b und c gar nicht durch die Temperatursteigerung bedingt sei, sondern noch auf die gleiche Ursache, ungenügende Durchfeuchtung der Membran, zurückzuführen, dass bei einem vierten Versuche trotz einer Temperaturerniedrigung die Mengen möglicherweise noch

weiter zugenommen hätten, stellte ich den nächsten Versuch unter Innehaltung derselben Filtrationsdauer, wie bei Versuch 7 von 20′, derselben Intervalle zwischen den einzelnen Abtheilungen von gleichfalls 20′ und derselben Temperaturen in der Weise an, dass niedere und höhere Temperaturen mit einander abwechselten. — Die Resultate entsprechen auch hier ganz der Einwirkung der Temperatur in demjenigen Sinne, wie ich es vor der Beschreibung der einzelnen Versuche angeführt habe.

Versuch 8 d. 16./III. 85. Membran: die im vorigen Versuch benutzte; erweicht; unter Druck gesetzt; Filtrationsflüssigkeit: dasselbe verdünnte Blutserum wie in Versuch 7.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	38¾°	20′	6,7025 gr.	6,5625	0,140	0,121	0,019
b)	42½°	20′	7,2755 »	7,1290	0,1465	0,1315	0,015
c)	37½—38½°	20′	6,6655 »	6,5295	0,136	0,114	0,022
d)	42½°	20′	7,6885 »	7,5315	0,157	0,141	0,016

Versuch 12 d. 25./III. 85. Membran: die in den vorhergehenden Versuchen benutzte. Filtrationsflüssigkeit: Blutserum mit 8,81 % festen, 7,901 % organischen, 0,908 % anorganischen Bestandtheilen.

	Temp.	Dauer.	Filtratmenge.	Wassermenge.	fest. Rückst.	organ.	anorgan.
a)	35½°	45′	3,762	3,426	0,236	0,202	0,034
b)	40½°	45′	4,3575	4,068	0,2895	0,25	0,0395

Aus den Resultaten dieser 13 Versuche, sowohl der mit grossen, als auch der mit geringen Temperaturdifferenzen, scheint mir als vollkommen sicher hervorzugehen, dass bei höherer Temperatur sowohl die Filtratmenge zunehme, wie auch der gesammte feste Rückstand und speciell die in ihm enthaltenen organischen Bestandtheile sich vermehren. Ob freilich ein bestimmtes Verhältniss zwischen der Vermehrung der Temperatur und der Zunahme der Filtrat- resp. Rückstandsmengen statthat, ob vielleicht beide einander proportional sind, das lässt sich mit Sicherheit aus den Versuchen nicht schliessen, wenn auch nicht zu verkennen ist, dass die grössere oder geringere Temperaturdifferenz zwischen zwei Versuchs-

abtheilungen sich deutlich in den Ergebnissen des Filtrats ausdrückt. Wo zwischen zwei Versuchen die Unterschiede in der Temperatur bedeutende waren: 10°—15°—20°, da sind auch die Filtratmengen dementsprechend um das Doppelte, ja Dreifache von einander verschieden, wo die Unterschiede nur 5—8° betragen, da zeigen auch die Filtrate weit kleinere Differenzen. Man vergleiche z. B. Versuch 2:

		Menge.	fest. Rückst.	organ.
a)	35°	15,9755	0,325	0,283
b)	16¼°	8,8345	0,1735	0,135
Versuch 5:				
a)	20°	17,026	0,3065	0,2725
b)	38¾°	31,7095	0,7305	0,6365
Versuch 11:				
a)	13°	3,495	0,266	0,233
b)	30°	9,048	0,709	0,645

u. a., und halte dem gegenüber die Resultate folgender Versuche:

Versuch 7:				
b)	37½°	5,998	0,139	0,123
c)	42½°	6,645	0,1524	0,1385
Versuch 8:				
a)	38¾°	6,7025	0,140	0,121
b)	42½°	7,2755	0,1465	0,1315
c)	37½—38½°	6,665	0,136	0,114
d)	42½°	7,6885	0,157	0,141

ferner auch Versuch 10 und 13, bei welchen zwischen den einzelnen Abtheilungen sowohl grössere wie geringere Differenzen liegen.

Von einer Reihe von Werthen, die ich in der letzten Columne der Versuchstabellen mit aufgeführt habe, und welche die Verhältnisse der anorganischen Substanzen betreffen, ist bisher noch nicht die Rede gewesen, und wenn dies auch nicht direkt zum Thema gehört, so will ich doch mit einigen Worten darauf hinweisen.

Bei allen denjenigen Versuchen, bei welchen ich die Temperaturunterschiede gross nahm, zeigt sich auch hier in allen Fällen — einen einzigen ausgenommen — eine Zunahme

der absoluten Werthe bei steigender Temperatur. Bei den Versuchen mit geringen Temperaturdifferenzen schwanken dagegen die Resultate; in Versuch 7 und 8 habe ich eine, wenn auch geringe, so doch deutliche Abnahme, in Versuch 12, der sich in denselben Temperaturgrenzen bewegt, ebenso wie im Vorversuch und im Versuch 6 zwischen b und c, habe ich Erhöhungen zu constatiren. — Bei der Kleinheit der Werthe, um welche es sich handelt und welche einerseits mit der geringen Menge anorganischer Substanz, die überhaupt vorhanden ist, andererseits mit der geringen Temperaturdifferenz zusammenhängt, bei dem Zwiespalt der Resultate, die eine Auffassung in dem einen oder anderen Sinne zulassen, und endlich der Analogie der bisher gefundenen Thatsachen folgend, möchte ich mich der Annahme zuneigen, dass auch die Menge der anorganischen Substanzen zunehme — freilich weniger als die Flüssigkeitsmenge und in geringerem Massstabe als die der organischen, ein Punkt, auf den ich bei Darlegung der Verhältnisse zurückkommen werde, welche die relativen d. h. procentischen Filtratmengen betreffen. —

Eben diese procentischen Werthe etwas genauer zu betrachten, dazu will ich jetzt, nachdem ich die absoluten Werthe ausführlich besprochen habe, übergehen. — Auch hier werde ich die anorganischen von den organischen Werthen gesondert behandeln, werde jedoch der besseren Vergleichung halber beide Werthe in der nächsten Tabelle neben einander stellen. Wie oben angegeben, sind diese Werthe aus der absoluten Menge der filtrirten festen Bestandtheile im Verhältniss zur Menge der filtrirten Flüssigkeit berechnet, und zwar wurden der Gesammtrückstand, die organischen und anorganischen Stoffe für sich gesondert berechnet, um aus der Addition der letzteren zugleich eine Probe für die Richtigkeit aller drei Resultate zu haben. Es ergab sich Folgendes:

		Temp.	Menge gr.	fest. Rückst. %	organ. %	anorgan. %
Versuch	2.	Verd. Blutserum		**2,366**	**2,088**	**0,283**
	a)	35°	15,9755	2,034	1,771	0,262
	b)	16¼°	8,8345	1,964	1,528	0,435

		Temp.	Menge gr.	fest. Rückst. %	organ. %	anorgan. %
Versuch	3.	Verd: Serum		**2,366**	**2,083**	**0,283**
	a)	15°	2,91	2,319	1,962	0,357
	b)	36—37°	10,9095	2,37	1,958	0,412
Versuch	5.	Verd. Serum		**2,323**	**2,10**	**0,223**
	a)	33°	9,385	2,029	—	—
	b)	20°	17,026	1,799	1,6	0,199
	c)	38 3/4°	31,7095	2,303	2,007	0,296
	d)	21 1/4°	12,2195	1,153	1,03	0,123
Versuch	6.	Verd. Serum		**2,323**	**2,10**	**0,223**
	b)	33 3/4°	5,1715	2,178	1,895	0,283
	c)	24—25°	4,1035	2,155	1,839	0,316
Versuch	9.	Verd. Eiereiweiss		**2,295**	**2,19**	**0,105**
	a)	15°	4,0025	1,748	1,449	0,299
	b)	25°	4,914	1,973	1,872	0,101
	c)	25°	4,5275	2,051	1,877	0,174
	d)	32 1/2°	5,1395	1,974	1,848	0.126
Versuch	10.	Verd. Eiereiweiss		**2,295**	**2,19**	**0,105**
	a)	15°	2,7715	1,785	1,551	0,234
	b)	32 1/2°	5,9535	1,822	1,671	0,151
	c)	39°	6,246	1,825	1,641	0,184
Versuch	11.	Serum		**8,809**	**7,901**	**0,908**
	a)	13°	3,495	7,608	6,666	0,943
	b)	30°	9,0485	7,835	7,128	0,707
Versuch	13.	Verd. Serum.				
	a)	15°	0,4885	2,264	1,648	0,616
	b)	31°	1,4585	2,811	2,331	0,479
	c)	40°	2,211	2,849	2,532	0,317
Versuch	7.	Verd. Serum		**2,323**	**2,1**	**0,223**
	a)	37 1/2°	5,998	2,316	2,05	0,266
	b)	42 1/2°	6,645	2,279	2,084	0,195
Versuch	8.	Verd. Serum		**2,323**	**2,1**	**0,223**
	a)	34 3/4°	6,7025	2,088	1,805	0,283
	b)	42 1/2°	7,2755	2,013	1,807	0,206
	c)	37 1/2—38 1/2°	6,665	2,041	1,711	0,330
	d)	42 1/2°	7,6885	2,041	1,833	0,208
Versuch	12.	Verd. Serum		**8,809**	**7,901**	**0,908**
	a)	35 1/2°	3,726	6,273	5,369	0,904
	b)	40 1/2°	4,3575	6,642	5,737	0,905

Werfe ich, bevor ich die einzelnen Filtrate auf ihren procentischen Rückstand an festen Substanzen hin mit einander vergleiche, kurz einen Blick auf das Verhältniss, in dem der Filtratrückstand zu dem der ursprünglichen Lösung steht, so zeigt sich, dass der Gesammtrückstand des Filtrates stets mehr oder weniger hinter dem der ursprünglichen Lösung zurückbleibt, dass für die organischen Substanzen dasselbe gilt — eine Thatsache, in welcher alle neueren Untersucher übereinstimmen, sofern es sich nicht um leicht diffundirende Stoffe handelt —, dass dagegen in weitaus der Mehrzahl der Fälle das Filtrat an anorganischen Substanzen concentrirter ist, als die nicht filtrirte Lösung. Auch dieser Befund steht übrigens nicht vereinzelt da, denn Hoppe-Seyler liefert in seiner oben citirten Arbeit ein Beispiel dafür, und nach Schmidt geht aus einer Lösung, welche Chlornatrium neben Gummi enthält, procentisch mehr Chlornatrium und weniger Gummi in das Filtrat über.

Ueberblicken wir nun die Ergebnisse, welche die Filtrate, unter sich verglichen, ergeben, und fassen wir zunächst diejenigen Versuche, in denen grosse Temperaturdifferenzen zur Anwendung kamen, in's Auge, so finden wir für die Gesammtrückstände und organischen Substanzen das Folgende:

Die procentischen Werthe für die Gesammtrückstände sind bei den 8 Versuchen, welche hier in Betracht kommen, in 7 Fällen für die höheren Temperaturen höher, niedriger nur in Versuch 9, in welchem Abtheilung d bei $32\frac{1}{2}^0$ angestellt, gegen b (25^0) keine deutliche Vermehrung, gegen c (ebenfalls 25^0) sogar eine Herabsetzung zeigt. Der Temperaturunterschied ist hier ein verhältnissmässig geringer; gegen a (15^0) lassen die drei folgenden Versuchsabtheilungen eine deutliche Steigerung erkennen. — In Beziehung auf die organischen Substanzen finden sich in den Resultaten der Versuche 9, 10 und 3 Abweichungen. In den beiden ersteren dieser drei Versuche ist die Temperaturdifferenz nur ca. 7^0, bei Versuch 3 ist zu berücksichtigen, dass die Menge der

organischen Substanz absolut sich vervierfacht hat, aber mit der kolossalen Vermehrung der Wassertranssudation, welche von 2,9 gr. auf 10,9 gr. stieg, nicht ganz gleichen Schritt hielt. Uebrigens ist die Differenz von 0,004% eine so minimale, dass dieser Versuch nicht gegen die Mehrzahl verwerthet werden kann.

Betrachten wir nun die restirenden Versuche 8, 7, 12, welche mit Temperaturunterschieden von ca. 5° angestellt wurden, so zeigt sich, dass der Gesammtrückstand in den Versuchen 7 und 8a b bei der höheren, in den Versuchen 8c d und 12 bei der niedrigeren Temperatur geringer ist, dass dagegen in allen diesen Versuchen mit Erhöhung der Temperatur eine mehr oder minder starke Vermehrung der organischen Materie sich herausstellt.

Was die anorganischen Substanzen betrifft, so stellt sich bei den in der vorstehenden Tabelle aufgeführten 11 — oder, wenn ich Versuch 8 in zwei Versuche a b und c d zerlege, 12 — Versuchen die ziemlich überraschende Thatsache heraus, dass die procentischen Mengen, welche das Filtrat an anorganischen Stoffen aufweist, in 9 resp. 10 Fällen bei höherer Temperatur geringer sind als bei niedrigerer. Eine geringere Concentration bei höherer Temperatur findet sich also in ca. 82% der Fälle.

Wenn man die correspondirenden Werthe für die organischen Substanzen überblickt, so könnte man vielleicht die Thatsache nicht besonders auffallend finden, denn diese sind ja mit Hilfe jener berechnet, und wo die einen vermehrt sind, zeigen sich die anderen vermindert. Diese Anschauung trifft jedenfalls nicht zu; sie würde richtig sein, wenn die Gesammtwerthe sich gleich blieben, da aber diese selbst bei höherer Temperatur gesteigert sind — wenigstens doch in der grossen Mehrzahl der Fälle —, so wäre es möglich, dass sowohl organische als auch anorganische Substanzen sich betheiligten; in meinen Versuchen liegt aber die Zunahme in der Regel nur auf Seiten der organischen Substanz und ist so bedeutend, dass sie das Minus an anorganischer im Gesammtrückstand sogar übercompensirt. In Versuch 5 steigen

beide Werthe mit einander auf und ab; beide sind bei höherer Temperatur vermehrt und bei niederer vermindert.

			Organ. Substanz.	Anorg. Substanz.
Versuch 5	b)	20°	1,600 %	0,199 %
	c)	38¾°	2,007 »	0,296 »
	d)	21¼°	1,03 »	0,123 »

In den beiden anderen Ausnahmefällen findet bei vermehrter anorganischer Substanz eine Verminderung organischer statt.

Fasse ich nun noch einmal die Resultate zusammen, welche ich bei der Filtration von Blutserum und Eiereiweiss durch Schweinsblase erhalten habe, so ergiebt sich Folgendes:

1. Die Filtratmenge nimmt bei höherer Temperatur zu und zwar um so mehr, je mehr die Temperatur gesteigert wird.

2. Die Gesammtrückstände sind in ihren absoluten Mengen bei höherer Temperatur vermehrt, und auch hier ist die Zunahme um so grösser, je grösser die Temperaturdifferenzen sind.

In der grossen Mehrzahl der Fälle, nämlich in 9 von 11, sind auch die relativen Mengenverhältnisse bei höherer Temperatur grössere.

3. Die absoluten Werthe der organischen Bestandtheile zeigen einer grösseren oder geringeren Temperaturzunahme entsprechend eine mehr oder weniger bedeutende Steigerung.

Die procentischen, relativen Werthe sind bei erhöhter Temperatur gleichfalls in den meisten Fällen vermehrt.

4. Auch die anorganischen Substanzen scheinen, was die absolute Menge betrifft, bei höherer Temperatur in stärkerem Masse zu filtriren, jedenfalls hat aber eine Temperatursteigerung auf sie geringeren Einfluss, als auf die organischen Substanzen, denn die procentischen Mengen sind in der grossen Mehrzahl der Fälle bei höherer Temperatur vermindert.

Vom physikalischen Gesichtspunkte aus würde ich mit Anführung dieser Resultate meinem Thema Genüge geleistet haben. Da aber gerade die Filtration von Eiweisslösungen

durch thierische Membranen nicht nur dem Physiker, sondern jedenfalls in noch höherem Grade dem Physiologen und Pathologen Interesse abgewinnt, so will ich zum Schlusse eine kurze Betrachtung darüber anstellen, ob sich aus diesen physikalischen Versuchen nicht für ähnliche Vorgänge, die sich im thierischen Körper abspielen, etwas folgern liesse.

Kurz berühren will ich nur, dass die Resultate meiner Versuche vielleicht mit zur Erklärung der Differenz, welche sich im Eiweissgehalt zwischen Transsudat und Exsudat findet, herangezogen werden können; es wäre ja möglich, dass der grössere Eiweissgehalt der in fieberhaften Zuständen gesetzten Exsudate, abgesehen von anderen Ursachen, auch von der leichteren Filtrirbarkeit des Eiweisses bei höherer Temperatur abhinge.

Etwas näher möchte ich aber eingehen auf die in der Niere sich abspielenden Filtrations-Prozesse. Wenn auch im normalen Zustande — ich schliesse mich hier ganz den Ausführungen Senator's [15]) an — das Filtrat, das in die Harnkanälchen übergeht, ein «fast eiweissfreies» ist, so wenig Eiweiss enthält, dass dies mittels der gewöhnlichen Reaktionen nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden kann, so ist doch ein vermehrter Uebertritt von Albumen in den Harn unter gewissen pathologischen Veränderungen ein überaus häufiger. Ich sehe hier ganz von den Fällen ab, bei welchen sich sicher nachweisbare Veränderungen des Nierenparenchyms, der Filtrationsmembran finden, und beschränke mich darauf hinzuweisen auf das Vorhandensein einer Albuminurie unter manchen allgemein pathologischen Zuständen. Unter diesen interessirt mich in Beziehung auf die von mir untersuchte Frage vorzüglich die Albuminurie im Fieber, die sog. «febrile Albuminurie».

Eine ganze Anzahl von ätiologischen Momenten sind durch klinische Erfahrungen, sowie durch das Experiment in ihrer Antheilnahme an der Hervorrufung dieses Vorganges mehr oder minder sichergestellt. Dies sind z. B. der vermehrte Blutdruck mit geringerer Ausscheidung von Harn-

wasser, wie er im Beginn fieberhafter Krankheiten vorkommt, Blutdruckverminderung mit verminderter Strömungsgeschwindigkeit in späteren Stadien u. a. m.

In letzter Zeit wies nun Senator auf eine physikalische Veränderung des Blutes hin, «welche vielleicht die Eiweisstranssudation abnormer Weise zur Albuminurie steigern könnte, es ist dies die Zunahme der Temperatur.» — Meine Versuche haben eine absolute Zunahme des Filtrats an Eiweiss in allen, und eine Steigerung des procentischen Gehalts daran in den meisten Fällen ergeben, allein es ist doch dabei zu bedenken, dass diese Versuche überhaupt nicht unmittelbar mit den Vorgängen im Organismus in Parellele gestellt werden können, da es sich hier eben um todte Membranen handelt, ferner dass ich wirklich bedeutende, in's Gewicht fallende Ausschläge nur bei Temperaturdifferenzen erhalten habe, wie sie in der Oeconomie des thierischen Organismus dauernd überhaupt nicht vorkommen, dass ich bei denjenigen Versuchen hingegen, welche in ihren Temperaturunterschieden den Verhältnissen ungefähr analog sind, um welche es sich in fieberhaften Wärmeerhöhungen handeln könnte, und bei welchen ich ziemlich die gleichen Wärmegrade 37° bis 42° C. anwandte, doch nur verhältnissmässig geringe Substanzzunahme zu constatiren hatte. Immerhin sprechen sie aber eher für als gegen die Annahme, dass die fieberhaft erhöhte Temperatur die Filtrirbarkeit des Eiweisses befördert, und da ausserdem in Folge gesteigerter Wasserverdunstung von der Haut der Urin concentrirter wird, so kann möglicherweise dadurch der relative Eiweissgehalt des Filtrats noch mehr steigen.

Vorderhand möchte ich indessen meine Resultate vorwiegend vom physikalischen Standpunkte betrachtet wissen; ob ein wesentlicher Einfluss auf die Erklärung physiologisch-pathologischer Erscheinungen daraus abzuleiten ist, scheint mir erst durch weitere Versuche erwiesen werden zu müssen.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Senator für die Güte, mit der er mir dies Thema zur Bearbeitung überwies, sowie Herrn Dr. Herter für die freundliche Anleitung, die er mir bei Anstellung der Versuche in seinem Laboratorium zu Theil werden liess, meinen aufrichtigen Dank zu sagen.

Literatur.

1. Valentin, Repert. für Anatomie und Physiologie, Bd. 8, S. 69 ff.
2. Hoppe-Seyler, Virch. Arch., Bd. IX.
3. Wittich, Virch. Arch., Bd. X.
4. Funke, Virch. Arch., Bd. XIII.
5. Eckhard, Beiträge zur Anat. und Physiol., Bd. I. und III.
6. Markus, Ueber die Filtration von Gummilösungen durch thierische Membranen. Giessen 1860. Diss. inaug.
7. H. Nasse, Untersuchungen über die Einflüsse, welche die Lymphbildung beherrschen. Marburg, 1871.
8. W. Schmidt, Versuche über Filtrationsgeschwindigkeit verschiedener Flüssigkeiten durch thierische Membranen. Poggendorff's Annalen, Bd. 99, und Ueber die Beschaffenheit des Filtrats bei Filtration von Gummi, Eiweiss etc. durch thierische Membranen. Poggendorff's Annalen, Bd. 114.
9. Runeberg, Archiv für Heilkunde, Bd. XVIII; Deutsches Archiv für klinische Medicin, Bd. XXIII; Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. VI.
10. Gottwalt, s. Zeitschr. für physiolog. Chemie, Bd. IV.
11. Schmidt, Poggendorff's Annal., Bd. 99, S. 350.
12. Runeberg, Archiv für Heilkunde, Bd. XVIII.
13. Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologischen Chemie, § 75, und Virch. Arch., Bd. IX.
14. Schmidt, Poggendorff's Annalen, Bd. 114, S. 344.
15. Senator, Die Albuminurie im gesunden und kranken Zustande, S. 16 ff.

Ueber das Verhalten des Guanins, Xanthins und Hypoxanthins bei der Selbstgährung der Hefe.

Von

Dr. Victor Lehmann.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 24. April 1885.)

Das Verhalten des Nucleïns im Hungerzustande hat bei niederen Organismen eine Analogie in dem Verhalten dieses Körpers bei der sogenannten Selbstgährung der Hefe, einem Process, welcher beginnt, sobald Hefe mit Wasser von Zimmer- oder Körpertemperatur zusammengebracht wird und der unter Kohlensäure-Entwicklung und Abspaltung verschiedener Substanzen verläuft. Das Verhalten der hierbei aus dem Nucleïn frei werdenden Phosphorsäure ist von Kossel[1]) untersucht worden; er fand, dass sich die Menge der Nucleïnphosphorsäure beim Stehen der Hefe mit Wasser von Zimmertemperatur kaum verminderte, dagegen wohl bei 38°, also bei Körpertemperatur.

Die vorliegenden Versuche sollten nun über das Verhalten von Xanthin, Hypoxanthin[2]) und Guanin bei der Selbstgährung der Hefe einigen Aufschluss geben.

Beim Stehen mit Wasser bei Zimmertemperatur spalten sich aus dem Nucleïn nur Spuren von den genannten Basen ab: im Filtrat von 300 gr. Hefe, die 24 Stunden hindurch mit 1 Liter destillirtem Wasser bei Zimmertemperatur gestanden hatten, fand sich kein Xanthin, unwägbare Spuren von Hypoxanthin und 0,0017 gr. Guanin.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 14.

[2]) Unter Hypoxanthin ist hier noch Hypoxanthin + Adenin zu verstehen.

In zwei Versuchsreihen wurde jedesmal frische Presshefe in drei Theile zu je 300 gr. getheilt und in jeder dieser Portionen die Menge der drei Xanthinkörper bestimmt, und zwar:

I. in ganz frischer Hefe;
II. nach 24stündigem Stehen mit 1 Liter Wasser bei Zimmertemperatur;
III. nach 24stündigem Stehen mit 1 Liter Wasser bei 38—40°.

Die Hefe (event. mit dem Wasser) wurde mit ½procentiger Schwefelsäure (so viel, dass die ganze Flüssigkeit 2 Liter betrug) drei Stunden hindurch im Papin'schen Topf gekocht, dann mit Baryt gefällt, der Barytüberschuss durch Kohlensäure entfernt, filtrirt, das Filtrat auf ca. ⅙ seines Volumens eingedampft und darin Xanthin, Hypoxanthin und Guanin bestimmt.

Erste Versuchsreihe:

	I.	II.	III.
Hypoxanthin	0,2101	0,2188	0,0212
Guanin	0,0902	0,0140	0,0123
Xanthin	Nichts.	0.0731	0.1201

Zweite Versuchsreihe:

	I.	II.	III.
Hypoxanthin	0,1606	0,1736	0,0239
Guanin	Nichts.	Spuren.	Nichts.
Xanthin	0,0383	0,0509	0,1337

Die Menge des Hypoxanthins ist in Portion II. fast dieselbe wie in I., dagegen ist sie in III. bedeutend vermindert. Die Zahlen für Guanin und Xanthin stimmen in beiden Versuchsreihen nicht überein. Berücksichtigt man indessen, dass Guanin sehr leicht zu Xanthin oxydirt wird, und addirt man desshalb in beiden Reihen die Zahlen für Guanin und Xanthin, so hat man

in der ersten Reihe:

	I.	II.	III.
Guanin + Xanthin	0,0902	0,0871	0,1324

in der zweiten Reihe:

	I.	II.	III.
Guanin + Xanthin	0,0383	0,0509	0,1337

Aus diesen Zahlen ergiebt sich eine Zunahme von Guanin + Xanthin in Portion III. (die wohl hauptsächlich auf Xanthin zu beziehen ist).

Aus der ersten Versuchsreihe scheint hervorzugehen, dass bei der Zersetzung des Nucleïns primär nur Hypoxanthin und Guanin, nicht aber Xanthin entsteht.

Die Hauptergebnisse der vorliegenden Arbeit sind demnach:

1. Aus dem Nucleïn der Hefe werden beim Stehen mit Wasser bei Zimmertemperatur nur geringe Spuren von den genannten Basen in Freiheit gesetzt (womit das von Kossel ermittelte Constantbleiben der Nucleïn-Phosphorsäure übereinstimmt).

2. Beim Stehen mit Wasser bei Körpertemperatur wird die Gesammtmenge des Hypoxanthin geringer, die des Guanin + Xanthin grösser.

Nachtrag

zu den

Chemischen Studien über die Entwicklung der Insecteneier.

Von

A. Tichomiroff.

(Der Redaktion zugegangen am 20. Mai 1885.)

Als mein Manuscript bereits an die Redaktion abgesandt war, habe ich von Prof. Verson, Director der bacologischen Station in Padova, erfahren, dass von ihm ebenfalls eine Analyse des Chorions der Eier von B. mori ausgeführt worden war; und zwar ist die Arbeit von Prof. Verson zu derselben Zeit publicirt, als ich mit meinen chemischen Studien beschäftigt war [1]). Der genannte Forscher ist zu dem Schluss gekommen, dass das Chorion kein Chitin, sondern Keratin sei. Die Zahlen, die Verson bei der Analyse des Chorions gefunden hat, sind etwas von den meinigen abweichend (C 50,90, H 7,105, N 17,300, O 19,326, S 4,378, Asche 1,091). Die Methode der Reinigung der Schaalen war aber, wie mir scheint, weniger exact, als die meinige: zur Analyse dienten die Schaalen, die nach dem Ausschlüpfen der Räupchen gesammelt wurden. Von diesen Schaalen wurden die vertrockneten Eier (von denen die Räupchen

[1]) E. Verson: La composizione chimica dei gusei nella uova del filugello (Bolletino mensile di Bachicoltura, 1884, No. 9, Dicembre).

nicht ausgekrochen waren) mechanisch[1]) abgetrennt und später wurden die Schaalen mit destillirtem Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Diese Methode bietet meiner Ansicht nach keine Garantie dafür, dass alle Eiweisskörper und die von den Räupchen producirte Seide entfernt sind.

[1]) In derselben einfachen Weise, «wie die Bauern ihr Getreide von Spreu reinigen».

Zur Frage der Fettresorption.

Von

Immanuel Munk in Berlin.

(Der Redaktion zugegangen am 16. Juni 1885.)

Vor Kurzem hat Landwehr in dieser Zeitschrift [1]) einige, die Lehre von der Fettresorption betreffende Mittheilungen gemacht, die mir zu wenigen thatsächlichen Bemerkungen über den augenblicklichen Stand dieser gelegentlich auch von mir behandelten Frage [2]) Anlass geben. Landwehr hat thierisches Gummi, das Fette schnell und gut emulgirt, in Pankreas [3]) gefunden, wenigstens konnte er aus einzelnen «guten Pankreas» 1 gr. Gummi gewinnen, ebenso im Magensaft; weiter konnte er feststellen, dass beim Zusammentreffen von Galle und Mucin Gallenmucin gebildet und thierisches Gummi frei wird, welches sogleich vorzüglich emulgirende Eigenschaften entwickelt. Während nach ihm bei Galle, Mucin, Soda- und Seifenlösung es stets einer mechanischen Unterstützung für die Emulsionsbildung durch Schütteln etc. bedarf, erzielt man beim thierischen Gummi

---

1) Bd. IX, S. 361.

2) Virchow's Archiv, Bd. 95, S. 407.

3) Beiläufig beweist der Fund einer Substanz in einer Drüse noch nicht eo ipso auch das Vorkommen derselben im Drüsensekret, und normalen Pankreassaft hat Landwehr nicht untersucht. Ich erinnere nur daran, dass dieselbe Drüse, das Pankreas, in ihrer frischen Substanz nur das Zymogen, die Vorstufe des eiweissspaltenden Fermentes (Trypsin) enthält, während sich im Bauchspeichel kein Zymogen, sondern nur das Ferment findet; zudem braucht nicht jeder Bestandtheil der Drüse auch Bestandtheil des Sekretes zu sein.

dagegen stets eine reichliche Emulsion, die in nichts einer mit gutem pflanzlichen Gummi erzeugten nachsteht. Der erste Theil dieser Erfahrung steht in offenbarem Widerspruch zu der schönen Beobachtung von J. Gad[1]), nach der schon bei blosser Berührung von (auch nur eine Spur ranzigem) Oel z. B. Leberthran mit einer $^1/_4$—$^1/_2$ procentigen Sodalösung, ohne weitere mechanische Kräfte, sich die schönste milchartige Emulsion bildet und zwar in solcher Menge, als man unter Anwendung äusserer mechanischer Kräfte erhalten würde. Von der Richtigkeit der Beobachtung von Gad kann man sich leicht überzeugen. Es ist zum Mindesten einseitig, das gute Emulgirvermögen des Darmchymus und Bauchspeichels nur dem thierischen Gummi zuzuschreiben[2]), über dessen Gehalt im Safte und im Chymus und somit über den Umfang des Emulgirvermögens bisher keine quantitativen Angaben gemacht werden, und dabei die anderen drei Momente, welche anerkanntermassen die Emulsionsbildung begünstigen und deren Güte bedingen, ausser Acht zu lassen, einmal die Viskosität des Bauchspeichels in Folge des reichlichen Gehaltes desselben an Eiweiss[3]), sodann den Gehalt an Alkalikarbonaten und -Phosphaten, und endlich den Gehalt an Seifen.

Ich hatte aus der Beobachtung, dass bei Verdauung von Neutralfett 10 - 12 % der gesammten im Dünndarmchymus enthaltenen Fettkörper (Aetherextrakt) aus freien Säuren besteht, welche denselben Bedingungen der Emulgirung unterliegen wie die Fette, während der auf die betreffende Fettfütterung entfallende Koth an freien Fettsäuren und Seifen nur sehr wenig enthält, an beiden zusammen nur etwa 1 % der gefütterten Fettmenge, geschlossen, dass ein Theil des

[1]) Archiv für (Anatomie und) Physiologie, 1878, S. 181.

[2]) In dieser Hinsicht sagt Landwehr (a. a. O., S. 379): «Wir müssen vielmehr annehmen, dass durch die regulatorische Thätigkeit des Magens immer nur so viel Fett in den Darm tritt, als durch das vorhandene thierische Gummi emulgirt und schnell resorbirt werden kann.»

[3]) Das Verdauungssekret des Hundes enthält nach Heidenhain (Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. X, S. 557) 6—10 % feste Stoffe, darunter 5—9 % organische, welch' letztere vornehmlich aus Eiweiss bestehen.

Nahrungsfettes im Dünndarm in Fettsäuren und Glycerin gespalten wird und dass von den so abgespaltenen Fettsäuren eine bis den achten Theil des Fettes betragende Quantität in Form freier Fettsäuren zur Resorption gelangt (welch' letztere, wie frühere Versuche von mir gezeigt haben, weiterhin zu Neutralfett regenerirt werden). Landwehr gibt die Thatsache des Vorkommens freier Fettsäuren im Dünndarm zu, meint aber, man «könne ganz ungezwungen diese Fettsäuren als durch Fäulniss aus nicht zur Resorption gelangtem Fett abgespalten annehmen»; diese Fettsäuren «blieben liegen und würden als solche oder wohl zumeist in Form von Seifen mit dem Koth ausgestossen.» Er hat aber dabei übersehen, dass, wenn die Fettsäuren nur unresorbirt liegen bleiben und mit dem Koth ausgestossen werden, man dann doch die gesammte im Dünndarm angetroffene Menge von Fettsäuren auch im Dickdarm und im Koth vorfinden müsste, während, wie meine Bestimmungen, die übrigens in denen von Röhmann[1]) und Friedrich Müller[2]) Bestätigung finden, ergeben haben, nur kleine Antheile von Fettsäuren und Seifen, an beiden zusammen etwa nur 1% des verfütterten Fettes mit dem Koth heraustreten, somit also $^{9}/_{10}$—$^{11}/_{12}$ der im Dünndarm vorfindlichen freien Fettsäuren zur Resorption gelangt sein müssen. Angesichts dieser Erfahrungen ist die Resorption des grössten Theils der freien Fettsäuren des Dünndarmchymus unmöglich zu läugnen. Darin stimme ich allerdings auf Grund meiner Befunde mit Landwehr überein, dass nicht alles Fett vor der Resorption gespalten wird, wie ich dies bereits klar und deutlich ausgesprochen habe[3]); nach meinen Feststellungen dürfte die Fettspaltung im Darm für mindestens den 10. bis 8. Theil des Nahrungsfettes zutreffen, aber für diesen unbedingt, da anders die Befunde relativ beträchtlicher Mengen freier Fettsäuren im Dünndarm und nur geringer Mengen Fettsäuren und Seifen in dem nach Fettfütterung entleerten Koth nicht zu deuten sind.

---

[1]) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XIX, S. 530.

[2]) Zeitschrift für Biologie, Bd. XX, S. 364.

[3]) Virchow's Archiv, Bd. 95, S. 452.

Gegen die von mir wiederholt festgestellte Thatsache der guten Resorbirbarkeit fester Fettsäuren beim Hunde vermag der Versuch von Landwehr an sich selbst nur einen, so zu sagen, individuellen Werth in Anspruch zu nehmen, insofern er zeigt, dass grössere Mengen fester Fettsäuren vom Menschen gelegentlich nur mässig vertragen und ausgenutzt werden. Landwehr hat Gemenge von Oel,- Palmitin- und Stearinsäure genommen und immer «etwas Darmkatarrh» danach bekommen; stets konnte er einen grossen Theil der Säuren im Koth wiederfinden. Einmal kann diese Erfahrung eine rein individuelle sein; jedenfalls wäre es werthvoll gewesen, die Ausscheidung der Fettsäuren durch den Koth, dessen auf eine bestimmte Nahrung treffender Antheil, wie bekannt, sich nicht allzu schwer abgrenzen lässt, quantitativ zu verfolgen; Landwehr würde sich dann überzeugt haben, dass selbst sein, offenbar empfindlicher, Darm erhebliche Mengen von Fettsäuren resorbirt. Aus einer so unzulänglichen Beobachtung an einem einzigen Individuum sofort den Schluss zu ziehen, «dass beim Menschen die Verhältnisse der Resorption der Fettsäuren anders liegen als beim Hunde», ist zum Mindesten gewagt. Aber selbst wenn Landwehr durch ausgedehntere und die quantitative Seite der Frage berücksichtigende Versuche gezeigt hätte, dass, im Gegensatz zu den Feststellungen beim Hunde, feste Fettsäuren vom Menschen innerlich genommen weder gut vertragen, noch gut resorbirt werden, würde sich daraus noch kein bindender Schluss für die Frage der Fettresorption ergeben. Denn es ist etwas ganz Anderes, wenn grössere Mengen einer Substanz auf einmal aufgenommen werden, als wenn im Dünndarm von dem in dasselbe nach und nach in kleinen Portionen aus dem Magen hineingelangenden Fett Bruchtheile gespalten werden, so dass sich immer nur geringe Quantitäten freier Fettsäuren darin befinden, deren Resorption so umfangreich erfolgt, dass nur $^1/_{12}$ bis höchstens $^1/_{10}$ der überhaupt gebildeten Fettsäuren sich der Resorption entzieht.

In meiner mehrfach angezogenen Arbeit habe ich immer nur von der theilweisen Spaltung der Fette gesprochen und

bin geflissentlich, aus Mangel diesbezüglicher stringenter Beweise, der Frage aus dem Wege gegangen, ob diese nachweisbar erfolgende Spaltung dem fettspaltenden Ferment des Pankreassaftes oder den im Darm sich abspielenden Fäulnissprozessen zu verdanken ist. Landwehr entscheidet sich kurzer Hand dahin, dass er sich (gegen eine normale Fettspaltung und wohl auch) gegen ein eigentliches fettspaltendes Ferment im Pankreas aussprechen müsse und dass im Darm vorfindliche freie Fettsäuren den Fäulnissprozessen ihre Entstehung verdanken. Der zumeist hierfür angeführte Grund, dass nämlich in Gemischen von Bauchspeichel mit organischen Stoffen, zumal bei alkalischer Reaktion, so leicht Fäulnissprozesse auftreten, erscheint allein nicht stichhaltig. Denn wie Grützner[1]) gezeigt hat, erfolgt die Fettspaltung auch in schwach alkalischen Glycerinauszügen des Pankreas, die ca. 90% reines Glycerin enthalten, in so kurzer Zeit, dass, zumal bei der Concentration des Glycerin, eine Fäulniss nicht wohl auftreten kann. Ebenso dürften, soweit im Dünndarm die Reaktion sauer ist — und beim Hunde ist dies nicht selten durch den ganzen, sicher durch drei Viertel des Dünndarms der Fall — wohl kaum Fäulnissprozesse sich geltend machen. Ein Theil dieser im Dünndarm vorfindlichen, $^1/_{10}$ bis $^1/_8$ der Gesammtmenge an Fettkörpern (Fett, Cholesterin, Lecithin) betragenden freien Fettsäuren mag der Fettspaltung durch den Bauchspeichel seine Entstehung verdanken, ein kleiner Theil mag schon als solcher aus dem Magen hineingelangt sein, hat doch Cash[2]) (in C. Ludwig's Laboratorium) gezeigt, dass bei Fütterung mit Neutralfett sich schon im Magen des Hundes Fettsäuren finden, demnach also die Fettspaltung bereits im Magen beginnt und im Dünndarm einen grösseren Umfang erreicht.

Auch bezüglich der thatsächlichen Verhältnisse der Reaktion des Darmchymus kann ich mich, nach meinen Beobachtungen am Hunde, mit Landwehr nicht einver-

---

[1]) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XII, S. 285.

[2]) Archiv für (Anatomie und) Physiologie, 1880, S. 323.

standen erklären. Soweit aus dessen Darstellung zu erschliessen ist, scheint Landwehr der Meinung zu sein, dass nicht weit unterhalb der Einmündung des Gallenganges in den Dünndarm die Reaktion neutral wird. «Bald», sagt er[1]), «wird die Reaktion neutral, der Darmchymus bekommt ein milchiges Aussehen und wird, wie die mit Chylus gefüllten Lymphgefässe zeigen, resorbirt.» Nun habe ich aber bereits vor 5 Jahren[2]) und unabhängig von mir und ziemlich gleichzeitig Cash darauf aufmerksam gemacht, dass bei Fleisch- und Fettfütterung der Dünndarmchymus oder besser der Wandbelag der Dünndarmschleimhaut (einen eigentlichen flüssigen oder breiigen Dünndarminhalt findet man in der Norm nicht) stets saure Reaktion zeigt und frühestens etwa 10 Zoll unterhalb des Pylorus neutral wird und bis zum Blinddarm auch neutral bleibt und nur in Ausnahmefällen im untersten Theile des Ileum ganz schwach alkalisch wird. Cash hat sogar den gesammten Dünndarmchymus von saurer Reaktion gefunden. Dass im grössten Theil des Dünndarms beim Hunde noch saure Reaktion besteht, ist leicht verständlich. Wie Bidder und Schmidt[3]) zuerst festgestellt haben und seitdem wiederholt bestätigt worden ist, enthält der reine (speichelfreie) Magensaft des Hundes bei Fleischfütterung im Mittel 3,76 HCl, der speichelhaltige Magensaft 2,3 HCl pro mille, ist also von sehr erheblicher Acidität, somit muss auch der aus dem Magensaft in das Duodenum übertretende Chymus einen beträchtlichen Säuregehalt besitzen. Nun ist die Reaktion des aus Gallenfisteln frisch aufgefangenen Lebersekrets fast immer neutral und nur die der in der Gallenblase stagnirten Galle alkalisch gefunden worden; also wird durch die in den Darm ergossene Galle die Acidität des Chymus nur wenig abnehmen können, etwa in dem Verhältniss, als durch die Galle eine Verdünnung des Chymus bewirkt wird, nur dass beim Zusammentreffen der Galle mit

---

[1]) A. a. O., S. 376.

[2]) Virchow's Archiv, Bd. 80, S. 32.

[3]) Verdauungssäfte und Stoffwechsel, 1852, S. 47.

dem Chymus die Salzsäure des letzteren vom Alkali der gallensauren Salze gebunden und so die Gallensäuren frei werden, so dass der Dünndarmchymus statt der Salzsäure freie Gallensäure enthält. Nun besitzt der Bauchspeichel allerdings eine, durch kohlensaure und phosphorsaure Alkalien bedingte, stark alkalische Reaktion, allein nach allen zuverlässigen Beobachtern, insbesondere Bidder und Schmidt[1]), N. O. Bernstein[2]), sowie Heidenhain[3]), beträgt die Ausscheidungsgrösse dieses Verdauungssaftes, selbst auf der Höhe der Verdauung und bei grossen Hunden, nur etwa 1½ bis 2½ gr. pro Stunde, so dass bei der absoluten und relativen Kleinheit dieser Abscheidung es begreiflich wird, dass die Acidität des Dünndarmchymus nur ganz allmälig bis auf Null, bis zur neutralen Reaktion absinkt, und es somit durchaus nicht wunderbar ist, wenn in Folge der durch Fleischnahrung angeregten reichlichen Sekretion von Magensaft und der dadurch bedingten starken Acidität des Chymus derselbe noch bis an's Ende des Dünndarms schwach sauer oder höchstens neutral reagirt. In Folge der sauren Reaktion des Chymus sind in demselben die Fette nicht emulgirt; bei mikroskopischer Untersuchung des Belages der Dünndarmschleimhaut findet man, zum Mindesten in den oberen zwei Dritteln des Dünndarms, im Chymus, wie dies auch Cash beobachtet hat, noch grosse Fetttropfen, die um das Vielfache grösser sind als die in einer Fettemulsion. Und doch sieht man von den Partien des Dünndarms, deren Chymus sauer reagirt und in denen das Fett in grossen Tropfen, nicht emulgirt umherschwimmt, mit weissem Chylus gefüllte Lymphgefässe durch das Mesenterium ziehen, zum Beweise, dass die Resorption nicht emulgirten Fettes bezw. Fettsäuren zu Stande kommt, auch bei saurer Reaktion des Chymus. Da also fast ausnahmslos sich die Fette des Dünndarm-

[1]) A. a. O., S. 244.

[2]) Berichte der sächs. Gesellsch. d. Wiss.. Math.-physik. Classe, 1869, S. 97.

[3]) Handbuch der Physiologie, Bd. V, 1. Theil, S. 182.

chymus im nicht emulgirten Zustande finden, so hat der Befund des an sich gut emulgirenden thierischen Gummi im Magen- und Darminhalt keine wesentliche Bedeutung, ist doch die von Landwehr als so vorzüglich hingestellte Emulgirungsfähigkeit des Gummi hier, offenbar in Folge der sauren Reaktion des Chymus, nicht realisirt. Für das Verständniss der unzweifelhaft erfolgenden Resorption von Fetten bezw. Fettsäuren bei saurer Reaktion des Chymus bleibt nur übrig, auf Zellen, welche die Resorption besorgen, zu recurriren, wie ich dies auch für die schwer schmelzbaren Fette (Hammelfett und deren Säuren), welche bei Körpertemperatur nur von salbenähnlicher Consistenz sind, angedeutet habe. Während man bis vor Kurzem nach Hoppe-Seyler die Cylinderepithelien des Dünndarms die emulgirten Fette aufnehmen liess, haben die interessanten und leicht zu bestätigenden Beobachtungen von Zawarykin[1]), sowie von Wiedersheim[2]) den Vorgang dahin aufgeklärt, dass die fettfreien Lymphzellen aus dem adenoiden Gewebe der Darmschleimhaut sich nach dem Epithel zu bewegen, um dort Fett aufzunehmen und dann mit Fett erfüllt durch die Lücken zwischen den Basalsäumen des Cylinderepithels in das Zellenparenchym zurückzukehren und in die Chyluskanäle zu gelangen. Für die mit amöboider Bewegung begabten und für aktive Stoffaufnahme befähigten Lymphzellen dürfte es, so äusserte ich mich bereits[3]), keinen wesentlichen Unterschied bedingen, ob das Fett bezw. die Fettsäuren flüssig oder nur von butterweicher Consistenz sind. Auf Grund des Befundes von chylösen Darmlymphgefässen bei saurer Reaktion des Darmchymus müsste man annehmen, dass die amöboiden Lymphzellen Fett bezw. Fettsäure aufnehmen können, auch wenn dasselbe nicht emulgirt ist.

---

[1]) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XXXI, S. 231; bestätigt von Preusse, Archiv für wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde, Bd. XI, Heft 3.

[2]) Festschrift der 56. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Freiburg, 1883, 18 S.

[3]) Virchow's Archiv, Bd. 95, S. 436.

Soweit das Thatsächliche zur Frage der Fettresorption. Alles in Allem kann gegenüber den thatsächlich vorliegenden Verhältnissen, wie sie im Vorstehenden kurz dargelegt sind, nicht zugegeben werden, dass der Befund von thierischem Gummi im Magen- und Darminhalt, so interessant er an sich ist, für die Frage der Fettresorption als ein wesentlicher Faktor sich verwerthen lässt, ist er doch, wie gezeigt, nicht im Stande, die für das Verständniss dieses Vorganges bei den Carnivoren (und vermuthlich auch beim Menschen) noch bestehenden Schwierigkeiten zu heben oder auch nur sichtlich zu vermindern.

Eine Methode zur Bestimmung der relativen Pepsinmenge.

Von

Dr. Emil Schütz,
Docent an der deutschen Universität in Prag.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)
(Der Redaktion zugegangen am 30. Juni 1885.)

Alle bisher in Vorschlag gebrachten Methoden für die Bestimmung des Pepsins beabsichtigten nur eine Ermittelung seiner relativen Mengen. Auch das von mir ausgearbeitete Verfahren ist von dieser Art; es unterscheidet sich aber von den bereits bekannten schon dadurch, dass das Pepsin nicht blos, wie bei jenen, schätzungsweise gefunden wird, sondern dass es dasselbe einer genauen Messung zugängig macht.

Es kommt aber noch ein anderer wesentlicher Unterschied hinzu. Fast alle meine Vorgänger haben die Summe sämmtlicher Verdauungsprodukte als Maass für das Pepsin benützt, was aber nur unter der Voraussetzung richtig wäre, wenn die einzelnen Produkte in jeder Phase der Verdauung zu einander in einem festen Verhältnisse stünden. Darüber ist jedoch bis jetzt nichts Sicheres bekannt.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend habe ich, auf Vorschlag des Herrn Professor Huppert und unter seiner Leitung, in einer Reihe von Versuchen alle Verdauungsprodukte einzeln bestimmt und die Abhängigkeit derselben von den Verdauungsagentien ermittelt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung werde ich in Gemeinschaft mit Herrn Professor Huppert nächstens veröffentlichen. Aus denselben hebe ich nur dasjenige Resultat hervor, welches für die gestellte Aufgabe von Bedeutung ist.

Für das Verständniss desselben wird es nöthig sein, einige Bemerkungen darüber vorauszuschicken, wie ich zu den unten angeführten Zahlen gelangt bin. Als Verdauungsobjekt diente eine Lösung von globulinfreiem Eieralbumin. Das Pepsin war durch Selbstverdauung der Schleimhaut vom Schweinsmagen dargestellt und durch anhaltende Dialyse vom Pepton befreit worden. In den Verdauungsversuchen waren alle Bedingungen gleich, nur das Pepsin wurde in wechselnden Mengen angewendet. Aus dem Verdauungsprodukt wurden alle Eiweisskörper mit Ausnahme des Peptons als Eisenoxydsalze ausgefällt, die Lösung des rückständigen Peptons in allen Versuchen auf ein und dasselbe Volumen gebracht und ihre Drehung mit einem guten Hofmann-Wild'schen Polaristrobometer bestimmt. Es ergab sich dabei, dass sich die Peptondrehungen, oder was dasselbe ist, die Peptonmengen verhielten wie die Quadratwurzeln aus den Pepsinmengen.

Als Belege für diese Gesetzmässigkeit führe ich folgende Zahlen an.

I. Versuchsreihe.

Versuch.	Pepsin.	Peptondrehung in Minuten		
		beobachtet.	Mittel.	berechnet.
I.	1	7,5 7,1	7,3	7,4
II.	2	9,7 9,8	9,75	10,4
III.	3	12,8 12,8	12,8	12,7
IV.	4	14,8 14,8	14,8	14,7
V.	5	16,9 16,1	16,5	16,4
VI.	6	19,5 17,4	18,45	18,9
Summe			79,60	79,60

II. Versuchsreihe.

Versuch.	Pepsin.	Peptondrehung in Minuten		
		beobachtet.	Mittel.	berechnet.
I.	1	9,37 9,43	9,40	10,8
II.	4	20,75 20,47	20,61	21,6
III.	9	31,53 33,13	32,33	32,4
IV.	16	45,49 45,20	45,35	43,2
V.	25	54,63 55,80	55,21	54,1
VI.	36	69,96	64,96	64,9
VII.	49	76,03 75,90	75,97	75,7
VIII.	64	84,80 85,70	85,25	86,5
Summe			389,08	389,10

III. Versuchsreihe.

Versuch.	Pepsin.	Peptondrehung in Minuten		
		beobachtet.	Mittel.	berechnet.
I.	1	52,13 56,78	53,96	52,10
II.	2	76,53 78,33	77,43	73,67
III.	3	86,73 86,33	86,53	90,22
IV.	4	103,27	103,27	104,20
Summe			320,19	320,19

Man sieht, dass die Uebereinstimmung zwischen den beobachteten und berechneten Drehungen eine grosse ist. Es wird daher auch die oben ausgesprochene Behauptung von der Genauigkeit der Methode nicht als übertrieben erscheinen. Einer Vergleichung meines Verfahrens mit den bereits vorhandenen darf ich mich daher wohl für überhoben halten, und begnüge mich, in dieser Hinsicht nur auf die von Maly [1]) gegebene Zusammenstellung zu verweisen.

Ich beschreibe nun zunächst das Verfahren, welches man bei der Pepsinbestimmung einzuhalten hat, in seinen Grundzügen und mache dann noch über Einzelheiten erforderliche Angaben.

Zu den Verdauungsversuchen wird Eieralbumin verwendet, welches von Globulin möglichst befreit ist, und zwar in constanter Menge, weil Versuche von mir und Professor Huppert ergeben haben, dass innerhalb gewisser Grenzen die Menge des Peptons proportional ist der Menge des zur Verdauung verwendeten Eiweisses. Diese constante Albuminmenge soll 1 gr. betragen. Der Gehalt an freier Salzsäure darf zwischen 0,2 und 0,3% HCl schwanken; innerhalb dieser Säuregrade sind die erhaltenen Peptonmengen gleich. Das Gesammtvolumen der Verdauungsflüssigkeit betrage 100 cbcm.; eine kleine Abweichung von diesem Maasse ist ohne Einfluss auf die Menge des Produktes. Man erhält die Proben 16 Stunden auf einer Temperatur von 37,5°. Es braucht nicht noch hervorgehoben zu werden, dass die Menge des Peptons in merklicher Weise von der Dauer des Versuches und von der Höhe der Temperatur abhängt.

Alle diese Bedingungen lassen sich leicht herstellen; nur die Beschaffung von globulinfreiem Albumin macht Schwierigkeiten. Man kann nach Hammarsten bereitetes Albumin verwenden, muss es aber vorräthig haben, weil die Darstellung desselben lang dauert. Aufbewahren lässt es sich nach dem Eindampfen bei 40°. Es löst sich dann zwar zum grössten

---

[1]) Maly, Hermann, Handbuch der Physiologie, Bd. V, 2. Abth., S. 73.

Theil in Wasser, aber doch nicht vollständig, so dass man eine Lösung von bestimmtem Gehalt nicht durch Abwägen des festen Albumins bereiten kann; es muss vielmehr erst von der fertigen Lösung der Albumingehalt ermittelt werden.

Statt dieses zeitraubenden und umständlichen Verfahrens hat mir Herr Professor Huppert ein anderes vorgeschlagen, durch welches diese Schwierigkeiten umgangen werden können. Dasselbe beruht auf der Erfahrung, dass man aus Eiereiweiss durch relativ gleiche Mengen Säure das Globulin vollständig, oder doch für den vorliegenden Zweck so gut wie vollständig ausfällen kann und dass man dabei eine Albuminlösung von nahezu constantem Gehalt an Eiweiss erhält. Es wird so die Darstellung des Albumins wesentlich erleichtert und verkürzt und zugleich die Analyse der Albuminlösung überflüssig gemacht. Mögen auch die Eiweisse der einzelnen Eier in ihrer Zusammensetzung von einander abweichen, so werden sich doch die Durchschnittswerthe einer grösseren Anzahl von Eiweissen einander sehr nähern müssen; man erhält aber 1 Liter Eiweiss im Mittel aus 45 Eiern. Es ist daher auch begreiflich, dass gleiche Mengen Eiweiss zur Fällung des Globulins gleiche Mengen Säure brauchen und dass die Albuminlösung den gleichen Gehalt an Albumin besitzt.

Zur Darstellung der Albuminlösung verfährt man so, dass man dem Eiereiweiss auf das Liter 14 cbcm. Salzsäure von 1,12 Dichte (= 3,89 gr. HCl) hinzusetzt und sofort tüchtig schüttelt. Das Eiweiss verliert dabei seine zähe Beschaffenheit und wird unter Abscheidung von Globulin und reichlicher Entwicklung von Kohlensäure dünnflüssig. Es filtrirt leicht, namentlich wenn man die Mischung noch einige Stunden hat stehen lassen.

Die Salzsäure bewirkt an den Stellen, an welchen sie im Eiweiss untersinkt, einen weissen Niederschlag, der jedoch unbedeutend ist und deshalb nicht weiter in Betracht kommt. Will man diesen Niederschlag vermeiden, so braucht man nur eine verdünntere Salzsäure, z. B. 10procentige, anzuwenden. Man wählt Salzsäure zum Fällen des Globulins, weil solche auch als Verdauungssäure verwendet wird; eine

andere Säure könnte mit der Salzsäure bei der Verdauung konkurriren.

Die Säure entzieht dem Globulin die Basis, zerlegt alle Carbonate und führt die Phosphate in saure Phosphate über. Das ist durchaus nöthig, wenn man sicher sein will, dass die zugesetzte Verdauungssalzsäure als freie Säure in der Verdauungsmischung enthalten ist. In 10 cbcm. Eiereiweiss ist ungefähr 1 gr. Eiweiss enthalten. Bereitet man aus 10 cbcm. gewöhnlichem Eiereiweiss eine Verdauungsprobe von 100 cbcm. und hätte dieser 0,2—0,3 gr. HCl hinzugesetzt, so würde die Flüssigkeit zwar vom sauren Phosphat sauer reagiren, aber das Eiweiss würde nicht verdaut werden; denn das saure Phosphat ist auch in Gegenwart von Chloriden, wie aus Meissner's[1]) Versuchen hervorgeht, bei der Verdauung unwirksam.

Andererseits enthält die Albuminlösung trotz ihrer stark sauren Reaktion keine freie Säure; denn sie coagulirt gut beim Kochen. Allerdings bleibt dabei noch eine kleine, durch Ferrocyanwasserstoff nachweisbare Menge Eiweiss in Lösung, aber nicht deshalb, weil die Flüssigkeit zu viel, sondern weil sie zu wenig Säure enthält. Dieser Rest Eiweiss lässt sich durch weiteren Zusatz von Säure entfernen. Man darf dann der gesammten Albuminlösung aber nur sehr verdünnte Säure (Viertelnormalsäure) hinzufügen, wenn man den neutralen Punkt nicht überschreiten will. Um aber auf alle Fälle darüber sicher zu sein, dass die Verdauungsprobe zwischen 0,2 und 0,3% HCl enthält, so setzt man ihr 0,25% HCl hinzu.

Die Albuminlösung ist so gut wie globulinfrei; bei starkem Verdünnen mit Wasser trübt sie sich entweder gar nicht oder nur wenig. Die kleine rückständige Globulinmenge ist für den Versuch belanglos. In der angegebenen Weise bereitete Albuminlösung zeigt bei der Verdauung dasselbe gesetzmässige Verhalten, wie eine Lösung von ganz globulinfreiem Albumin.

Stellt man die Lösung immer aus einem grösseren Volumen Eiereiweiss dar, so enthält sie nahezu dieselbe Menge

---

1) G. Meissner, Zeitschrift für rationelle Medicin, 3. R., Bd. VII, S. 16, 1859.

Albumin, wie aus folgenden, mir von Professor Huppert mitgetheilten Thatsachen hervorgeht. In je 10 cbcm. zweier verschiedener Präparate wurden 1,0690 und 1,0514 gr. Albumin gefunden; der Niederschlag ist bei 120° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und die Asche abgezogen worden. Von diesen zwei Präparaten wurde mittelst des Sprengel'schen Pyknometers die Dichte bei 17,5° bestimmt; sie betrug 1,04112 und 1,04122. Bei einem dritten Albumin wurde sie zu 1,04135 gefunden. Die Uebereinstimmung zwischen den drei Proben ist also eine sehr grosse. Eine ähnliche Uebereinstimmung drückt sich auch in den Verdauungsprodukten aus. Es wurden von fünf anderen Albuminlösungen je 10 cbcm. mit ein und demselben Pepsin unter ganz gleichen Umständen verdaut und dabei für das gebildete Pepton gefunden $2\alpha_D = -57{,}9'$, 56,0, 55,8, 54,9, 53,1, im Mittel 55,5'. Dass die Verdauungsversuche nicht genauer unter einander übereinstimmen, hat wohl hauptsächlich seinen Grund in der Veränderlichkeit, welcher eine Pepsinlösung von der angewandten Verdünnung unterworfen ist. Bewahrt man stark verdünntes Pepsin über einen längeren Zeitraum auf, wie es bei diesen Versuchen der Fall war, so setzt sich das Pepsin mit dem Mucin zu Boden, und es ist dann sehr schwer wieder vollständig in der überstehenden Flüssigkeit zu vertheilen. Vielleicht verliert es bei der grossen Verdünnung auch an und für sich an Wirksamkeit.

Nach diesen Erfahrungen ist man wohl zu der Annahme berechtigt, dass die Albuminlösungen immer einen nahezu gleichen Gehalt an Albumin besitzen. Er würde für Lösungen, die mit der Salzsäure von 1,12 Dichte dargestellt sind, 1,06 gr. in 10 cbcm. betragen. Bei Verwendung einer schwächeren Säure müsste die grössere Verdünnung in Rechnung gezogen werden. Es dürfte aber nicht überflüssig sein, noch hinzuzufügen, dass zur Sicherstellung dieser Regelmässigkeit im Albumingehalt der Lösung noch eine grössere Anzahl Analysen erwünscht wäre. Käme es in gewissen Versuchen auf absolute Genauigkeit an, so wäre daher wohl die Vornahme einer Eiweissbestimmung anzurathen. Würde es sich dabei um die

Bestimmung des Peptons handeln, so könnte der Verdauungsversuch zu Ende geführt werden, ehe man den Gehalt der Lösung ganz genau kennte. Man müsste aber dann das Resultat noch nach der Regel corrigiren, dass die Peptonmengen proportional sind den zum Versuch verwendeten Eiweissmengen.

Mit einer solchen Albuminlösung kann man eine grössere Zahl von Versuchen ausführen, ohne dass man nöthig hat, sie bald zu erneuern. Sie widersteht, da sie sauere Reaktion besitzt, der Fäulniss viel länger, als eine alkalische Eiweisslösung. Sie lässt sich aber, ohne Störung des Resultates, noch haltbarer machen, wenn man ihr auf das Liter 0,2 gr. Thymol, entweder in fester Form oder besser in alkoholischer Lösung (1 cbcm. einer solchen, welche 20 gr. Thymol in 100 cbcm. enthält), hinzusetzt. Das Thymol hat zwar den Nachtheil, dass es etwas Eiweiss fällt und die Lösung milchig trüb macht, aber in dieser Concentration beeinflusst es die Verdauung nicht, wie sich aus einer Reihe von Versuchen ergeben hat, deren Resultate ich hier mittheile. Es wurde in denselben beobachtet bei einem Gehalt an Thymol in 100 cbcm. Verdauungsflüssigkeit:

von	0	0,0025	0,005	0,010	0,050	0,100 gr.
$2\alpha_D =$	$-74{,}9$	75,7	75,4	75,9	57,4	39,9 Minuten.

Also erst bei der Anwesenheit von mehr als 0,01 gr. Thymol in 100 cbcm. Verdauungsmischung hindert das Thymol die Verdauung. Nimmt man von der thymolisirten Eiweisslösung 10 cbcm. auf 100 Verdauungsflüssigkeit, so enthalten diese nur 0,002 gr. Thymol, also so wenig, dass davon kein nachtheiliger Einfluss auf den Verlauf des Versuches zu befürchten ist.

Eine besondere Betrachtung verdient noch ein Umstand, welcher für die Bestimmung des Peptons von Bedeutung ist. Dieselbe soll polarimetrisch vorgenommen werden. Nun enthält aber das Eiereiweiss, wie schon C. G. Lehmann[1])

---

[1]) C. G. Lehmann, Lehrbuch der physiologischen Chemie, II. Aufl., Bd. 1, S. 271, 1853.

angiebt, constant Zucker, und da der Zucker nachweislich in die gewonnene Peptonlösung übergeht, so fragt es sich, welcher Fehler dadurch in die Peptonbestimmung eingeführt wird. Dass die fragliche Substanz wirklich Zucker ist, dürfte unzweifelhaft sein. Lehmann wies nach, dass sie die Trommer'sche Probe giebt und dass sie gährungsfähig ist. Prof. Huppert überzeugte sich von ihrer Rechtsdrehung. Um sie zu isoliren, wurde eine grössere Menge Eiereiweiss unter Zusatz von Säure coagulirt und der Rest des in Lösung gebliebenen Eiweisses mit Eisenchlorid ausgefällt. Das Filtrat wurde mit Kupfersulphat und so viel Natronlauge versetzt, dass in einer abfiltrirten Probe nur noch Spuren Zucker nachweisbar waren, der Niederschlag etwas ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat concentrirt.

Ueber die Menge des im Eiereiweiss enthaltenen Zuckers liegen bereits einige Angaben vor. Lehmann[1]) giebt sie zu 0,5 % des trockenen Eiweisses (das wäre 0,06 % des flüssigen) an, aber wohl zu niedrig; er zog das unter Säurezusatz eingedampfte Eiweiss mit Alkohol aus und bestimmte den Zucker durch Gährung. G. Meissner[2]) hat 8 % des trockenen Eiweisses an Zucker gefunden, was einem Gehalt des flüssigen von 1 % entspricht. Das Weisse des gekochten Eies wurde dazu mit Wasser oder mit Salzsäure ausgezogen oder verdaut. Professor Huppert hat zweimal grössere Mengen Eieralbumin coagulirt und in dem Filtrat den Zucker durch Titriren bestimmt; er fand für 100 cbcm. Albumin 0,39 und 0,5 gr. Zucker. Betrüge der Gehalt des Albumins an Zucker nun 0,5 gr. in 100 cbcm., und nähme man 10 cbcm. Albumin für einen Versuch, so würden 0,05 gr. Zucker in die Verdauungsmischung gelangen; ginge während der Verarbeitung des Produkts kein Zucker verloren, so würde die zuletzt gewonnene Peptonlösung dieselbe Menge Zucker enthalten. In 100 cbcm. beträgt für 0,05 gr. Zucker $2\alpha_D = 3{,}15'$; da jedoch in meinen Versuchen die Peptonlösung nur ein Volumen

---

1) Lehmann, a. a. O., Bd. 2, S. 312, und Bd. 1, S. 265.
2) G. Meissner, a. a. O., S. 12.

von 40 cbcm. ausmacht, so wäre $2\alpha_D = 7{,}9'$. Diese Zahl giebt eine ungefähre Vorstellung von der Grösse des Fehlers, mit welchem die Peptonbestimmung, bei Verwendung von frisch bereitetem Albumin, behaftet sein könnte, eine Grösse, welche nicht vernachlässigt werden dürfte. Erweist sich die Albumin- oder die Peptonlösung als zuckerhaltig, so müsste die Peptonlösung, nachdem man den Grad ihrer Drehung ermittelt hat, mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure völlig ausgefällt und vom Filtrat die Rechtsdrehung bestimmt werden. Diese wäre, nach der Reduktion auf das ursprüngliche Volumen, der Linksdrehung der Peptonlösung hinzuzuzählen.

Diese Correctur hat man jedoch keineswegs immer nöthig. Beim Stehen der Albuminlösung verschwindet nämlich der Zucker vollständig aus ihr, wie es scheint durch alkoholische Gährung; denn es tritt in ihr eine starke Gasentwickelung ein und sie nimmt einen weinigen Geruch an. Auffällig bleibt dabei, dass eine Albuminlösung auf Zusatz von Hefe nur äusserst langsam vergährt; es scheint, dass eine andere Hefe als die gewöhnliche Alkoholhefe die Gährung bewirkt.

Der Verdauungsversuch selbst wird nun in folgender Weise angestellt. Man misst in ein Kölbchen zusammen Albuminlösung mit 1 gr. Albumin, das Pepsin, dessen Wirkungswerth bestimmt werden soll, Salzsäure mit 0,25 gr. HCl und ergänzt das Ganze auf 100 cbcm.

Bedient man sich dazu nach der oben angegebenen Anleitung bereiteter Albuminlösung, so hätte man 9,4 cbcm. abzumessen. Aus einem Grunde, welchen ich später noch angebe, war es in meinen Versuchen mit natürlichem menschlichen Magensaft nöthig, nicht mehr als 0,25 cbcm. zu verwenden; in solchem Falle verdünnt man, um diese kleine Menge genau abmessen zu können, den Magensaft und nimmt davon den entsprechenden Theil. Die Salzsäure hält man als 5- oder 10procentige vorräthig. Die Mischung nimmt man zweckmässig in dieser Reihenfolge vor: Albumin, Wasser, Salzsäure, Pepsin.

Die Kölbchen werden alsbald nach der Herstellung der Mischung in ein auf 37,5° angeheiztes Wasserbad gebracht und 16 Stunden (über Nacht) darin gelassen. Während dieser Zeit soll man die Temperatur des Bades möglichst auf der angegebenen Höhe halten; mir hat dabei der Soxhlet'sche Regulator gute Dienste geleistet.

Nach Ablauf der angegebenen Zeit giesst man die Versuchsflüssigkeit in eine ungefähr 500 cbcm. fassende Schale, spült das Kölbchen mit Wasser nach und neutralisirt die Säure. Man bedient sich dazu einer ungefähr 5procentigen Natronlauge (von der Dichte 1,059 bei 15° C.), deren Titer man auf die Verdauungssäure gestellt hat, und lässt das berechnete Volumen aus einer Burette zufliessen. Alsdann hat man alle Eiweisssubstanzen, mit Ausnahme des Peptons, zu entfernen. Das Verfahren, welches sich nach meinen eigenen und vielfachen Erfahrungen Anderer dazu am besten bewährt hat, ist folgendes. Man versetzt die Flüssigkeit mit etwas essigsaurem Natron, dann mit 5 cbcm. einer ungefähr 15procentigen, kalt bereiteten Eisenchloridlösung und neutralisirt. Dazu wird dieselbe Lauge verwendet, mit welcher die freie Säure neutralisirt wurde. Man setzt sie aus einer Burette zu und erfährt so annähernd diejenige Menge Lauge, welche man ein- für allemal in jedem einzelnen Versuche braucht. Die Reaktion muss mit sehr empfindlichem (violetten) Lackmuspapier geprüft werden. Nach dem Neutralisiren füllt man die Schale vollends mit Wasser an und kocht, wobei man darauf zu sehen hat, dass sich das Coagulum nicht in zu groben Flocken abscheidet. Die Flüssigkeit reagirt nach dem Kochen wieder sauer und enthält noch Eiweiss in Lösung. Man lässt erkalten, setzt noch 0,5 cbcm. Eisenchlorid zu, neutralisirt wieder sorgfältig, ersetzt das verdunstete Wasser und kocht wieder. Jetzt hat man die Flüssigkeit auf noch in Lösung befindliches Eiweiss zu prüfen. Zu diesem Zwecke saugt man mit einer capillar ausgezogenen Pipette etwas von der klaren, über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit auf, bringt sie in ein kleines, etwa 5 mm. weites Reagenzglas, schichtet auf die Flüssigkeit eine kleine Quantität einer

schwachen Lösung von Ferrocyanwasserstoff, und sieht nach, ob sich an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten eine weisse Zone bildet. Man belichtet dazu das Glas gut und hält es gegen einen dunkeln Hintergrund. Tritt der Niederschlag auch nach einiger Zeit nicht auf, so ist die Fällung gelungen. Meist ist dies jedoch noch nicht der Fall. Man wiederholt dann das Verfahren, bis jede Spur Eiweiss entfernt ist, setzt aber immer nur einige Zehntel cbcm. Eisenchlorid hinzu.

Hat man die Fällung vollendet, so kocht man auf ein kleines Volumen ein, bringt den Inhalt der Schaale ohne Verlust in einen Maasscylinder und füllt auf 250 cbcm. auf. Man schüttelt häufig, lässt über Nacht stehen, filtrirt, misst vom Filtrat 200 cbcm. ab, dampft fast zur Trockne ein und bringt den Rückstand auf ein Volumen von 40 cbcm. Die Lösung hat jetzt dieselbe Concentration, als wenn sämmtliche 250 cbcm. der ursprünglichen Flüssigkeit auf ein Volumen von 50 cbcm. gebracht worden wären. Von dieser Peptonlösung bestimmt man dann die Drehung im 2 Dm.-Rohr. Enthält die Peptonlösung Zucker, so hat man, wie bereits bemerkt, aus einem bestimmten Volumen das Pepton mit Phosphorwolframsäure zu entfernen und die für den Zucker entfallende Drehung zu der des Peptons hinzuzurechnen.

Es ist noch zu bemerken, dass die Gesetzmässigkeit zwischen der Pepton- und Pepsinmenge, auf welche sich diese Bestimmungsmethode des Pepsins gründet, aus Ursachen, welche ich hier nicht entwickeln kann, nur dann Gültigkeit hat, wenn die Drehung nicht über 100 Minuten beträgt. Fällt sie höher aus, so hat man den Versuch mit entsprechend kleineren Pepsinmengen zu wiederholen.

Die unter den angegebenen Verhältnissen beobachtete Drehung genügt schon für viele Fälle von vergleichenden Versuchen, und auf sie beziehen sich die von mir oben über das Verhältniss des Pepsins zum Pepton, ferner die über die Verdauungshemmung durch das Thymol, sowie die bei Besprechung der Concentration der Albuminlösung gemachten Angaben. Will man die dem Pepton wirklich entsprechende Drehung finden, so hat man Folgendes zu berücksichtigen.

Die Drehung im 1 Dm.-Rohr ergiebt den Gehalt an Substanz in 100 cbcm., die im 2 Dm.-Rohr also den Gehalt für 200 cbcm. Von der Lösung von dieser Concentration waren aber nur 50 cbcm. vorhanden. Man hat also die beobachtete Drehung durch 4 zu dividiren.

Aus dieser Drehung lässt sich dann auch, mittelst der spec. Drehung des Eieralbuminpeptons, die Peptonmenge berechnen. Für Verdünnungen, wie die polarimetrisch untersuchten Lösungen ergiebt sich nach Bestimmungen von Professor Huppert und mir $(\alpha)_D$ annähernd $= -65{,}3^{\circ} = -3918'$. Einer Drehung von 39,18′ entspricht demnach 1 gr. Pepton, d. h. man findet die Menge des Peptons in Grammen, wenn man die wirkliche Drehung durch 39,18 oder die beobachtete Drehung durch 4.39,18 dividirt.

Um aus den gefundenen Peptonmengen die relativen Pepsinmengen zu berechnen, hat man die Pepsinzahlen zu quadriren. Man erfährt so, in welchem Verhältniss die Pepsinmengen in den einzelnen Versuchen zu einander stehen. Um einen festen Punkt für die Vergleichung zu gewinnen, könnte man die eine oder die andere Beobachtung herausgreifen und dann sagen, in welchem Verhältniss alle anderen bestimmten Pepsinmengen zu der des einzelnen Falles stehen. Ein solches Maass wäre aber ganz willkürlich und desshalb unpraktisch. Als richtiges Maass wäre dagegen ein solches zu bezeichnen, auf welches man alle Beobachtungen beziehen könnte, und in diesem Sinne mache ich den Vorschlag, diejenige Pepsinmenge als die normale zu bezeichnen, welche unter den geschilderten Versuchsbedingungen 1 gr. Pepton zu bilden vermag. Diese Grösse bezeichne ich als Pepsineinheit. Man hat dann zu ermitteln, wie viel Pepsineinheiten in der Volumseinheit von 1 cbcm. Pepsinlösung enthalten waren. Bezeichnet man mit P die Pepsineinheit, mit m die direkt beobachtete Drehung in Minuten, mit p die Anzahl cbcm. der verwendeten Pepsinlösung, so findet man die Anzahl der Pepsineinheiten nach:

$$P = \frac{1}{p}\left(\frac{m}{4.39{,}18}\right)^2.$$

Ein Beispiel möge zur Erläuterung dienen. Es sei unter den angegebenen Bedingungen ein Verdauungsversuch mit 0,25 cbcm. natürlichem Magensaft angestellt worden und es habe sich $2\alpha_D = 75'$ ergeben. Es ist dann:

$$P = \frac{1}{0,25}\left(\frac{75}{156,7}\right)^2 = 4.0,229 = 0,916.$$

Im Cubikcentimeter des untersuchten Magensaftes wären also 0,916 Pepsinheiten enthalten.

Auf diese Weise sind die Pepsineinheiten in meiner Untersuchung über den Pepsingehalt des Magensaftes [1]) bestimmt worden.

---

[1]) Schütz, Prager Zeitschrift für Heilkunde, Bd. 5, S. 401, 1884.

Einiges über die Eiweisskörper der Frauen- und der Kuhmilch.

Von

Dr. A. Dogiel.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)
(Der Redaktion zugegangen am 30. Juni 1885.)

I. Der Peptongehalt der Milch.

Die Frage über die Anwesenheit von Pepton in der Frauen- und Kuhmilch hat in Betracht ihrer theoretischen und praktischen Bedeutung die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gezogen. Nachdem es F. Hofmeister[1]) gelungen war, eine Methode ausfindig zu machen, welche eine scharfe Trennung des Peptons von anderen Eiweisskörpern gestattete, konnte die Frage ihrer Lösung näher gebracht werden. Bei seinen Untersuchungen gelangte Hofmeister zu dem Resultate, dass sowohl in der Frauen- als Kuhmilch in frischem Zustande kein Pepton enthalten sei und dass erst bei der Säuerung Pepton in der Milch nachweisbar wird.

Unter Anwendung einer anderen Methode konnte nun aber Schmidt-Mülheim[2]) die Erfahrungen Hofmeister's nicht bestätigen. Nach ihm lässt sich in der Kuhmilch neben Casein und Albumin stets auch Pepton nachweisen. Die Menge des Peptons mache 0,08—0,19%, im Mittel 0,13% der Milch aus. Dass Hofmeister das Pepton übersehen habe, liege in seinem fehlerhaften Versuchsverfahren; denn erstens werde

---

1) F. Hofmeister, diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 288, 1878.
2) Schmidt-Mülheim, Pflüger's Archiv, Bd. 28, S. 287, 1882.

bei der Anwendung von Bleioxyd zur Fällung der Eiweisskörper auch Pepton in beträchtlicher Menge (0,1—0,2%) mit abgeschieden und zweitens sei die Biuretprobe zum Nachweiss des Peptons in der Milch ungeeignet, weil der Milchzucker die Biuretprobe undeutlich mache und ein in der Milch enthaltener gelber Farbstoff die Biuretprobe völlig verhindern könne.

Diesen Gegenstand habe ich unter Leitung des Herrn Professor Huppert auf's Neue einer Prüfung unterzogen und bin dabei so zu Werke gegangen, dass ich zunächst die Grösse des Verlustes von Pepton bestimmte den man erleidet, wenn man Pepton in kleiner Menge Milch oder Wasser hinzugesetzt hat. Alsdann habe ich die so controlirte Methode zum Aufsuchen von Pepton in der Milch, sowie zur Prüfung des Schmidt-Mülheim'schen Verfahrens benützt.

Isolirung des Peptons. Die Peptonlösung, welche der Milch hinzugefügt wurde, gab beim Ueberschichten mit Ferrocyanwasserstoff keine Spur einer Trübung. Die zu den Versuchen verwandte Kuhmilch war frisch gemolken. Ihre Menge betrug in den Versuchen, welche ich hier zuerst darstelle, immer 40 cbcm. Aus der Mischung wurden die übrigen Eiweisssubstanzen mittels Eisenchlorid nach bekannter Methode entfernt; die Fällung galt als gelungen, wenn eine kleine Probe der über dem Niederschlag stehenden klaren Flüssigkeit beim Ueberschichten mit Ferrocyanwasserstoff keine Trübung mehr erkennen liess. Flüssigkeit sammt Niederschlag wurden darauf ohne Verlust in einen Maasscylinder gebracht, bis zu einem bestimmten Volumen (190—250 cbcm.) aufgefüllt und unter häufigem Umschütteln bis zum anderen Tage (16 bis 20 Stunden) stehen gelassen. Dann wurde filtrirt und vom Filtrat ein bestimmtes Volumen (40 cbcm.) für die Peptonbestimmung abgemessen. Aus der in diesen 40 cbcm. Filtrat gefundenen Menge Pepton ist dann die in dem gesammten Filtrat enthaltene Peptonmenge berechnet worden.

Da es sich hier um die Bestimmung nur sehr kleiner Quantitäten Pepton handelte, so konnte nur das colorimetrische

Verfahren zur Verwendung gelangen. Es sollte das Filtrat mit einer Peptonlösung von bekanntem Gehalt mittels der Biuretfärbung verglichen werden; zur Färbung wurde eine auf das Doppelte verdünnte Fehling'sche Flüssigkeit benützt. Da aber die Fehling'sche Flüssigkeit in dem Milchfiltrat einen Niederschlag von Magnesiahydrat erzeugte, so wurde aus den 40 cbcm. Filtrat die Magnesia durch gleichzeitigen Zusatz von Natriumhydrat und Natriumphosphat entfernt, das Volumen der Mischung auf 55 cbcm. gebracht und filtrirt. Selbstverständlich wurde die Volumänderung bei der Berechnung des Peptons berücksichtigt. Die Peptonlösung war dieselbe, mit welcher die Milch versetzt worden war; nur wurde sie, um sie bei der Probe genau abmessen zu können, in der Mehrzahl der Fälle auf das Zehnfache mit Wasser verdünnt. Ihr Gehalt an Pepton war, annäherungsweise, polarimetrisch bestimmt.

Eine besondere Schwierigkeit für die Vergleichung der Farbentöne bestand darin, dass das Milchfiltrat fast immer eine leicht gelbliche Färbung besass und dadurch ziemlich stark von der Peptonlösung abstach. Diese Differenz der Färbung musste ausgeglichen werden, und das habe ich so gemacht, wie Professor Hofmeister bei seinen colorimetrischen Peptonbestimmungen. Hinter das die reine Peptonlösung enthaltende Glaskästchen wurde ein ebensolches Kästchen mit Wasser gestellt, dem so viel Harn zugesetzt wurde, dass die Peptonlösung im durchfallenden Lichte dieselbe Färbung besass, wie das Filtrat. Manchmal wurde zur Correction ausser Harn noch eine geringe Menge Pikrinsäure oder Lackmuslösung beigefügt.

Solcherweise habe ich eine grössere Anzahl von Peptonbestimmungen in der Milch bei verschiedenem Gehalt derselben ausgeführt. Es wurden dabei immer je 2 gleiche Portionen Milch der Untersuchung unterworfen und die Vergleichungen mit der Peptonlösung für jede Portion Milch auch zweimal vorgenommen. Die einzelnen Resultate sind in Tabelle I übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle I.

No.	Flüssigkeit.	Pepton						
		zugesetzt.		wieder gefunden.			verloren.	
	cbcm.	gr.	%	gr.	Mittel.	%	gr.	%
1	250	0,0400	0,0160	0,0367 0,0369	0,0368	0,0147	0,0032	0,0013
2	250	0,0400	0,0160	0,0354 0,0361	0,0358	0.0143	0,0042	0,0017
3	250	0,0400	0,0160	0,0386 0,0356 0,0387	0,0376	0,0150	0,0024	0,0010
4	250	0,0400	0,0160	0,0372 0,0361	0,0367	0,0147	0,0033	0,0013
5	250	0,0640	0,0256	0,0575 0,0575	0,0575	0,0230	0,0065	0,0026
6	250	0,0640	0,0256	0,0601 0,0610	0,0606	0,0242	0,0034	0,0014
7	250	0,0640	0,0256	0,0503 0,0570 0,0570 0,0529	0,0543	0,0217	0,0097	0,0039
8	250	0,0426	0.0170	0,0351 0,0349	0,0350	0,0140	0,0076	0,0030
9	225	0,0426	0,0189	0,0324 0,0324	0,0324	0,0144	0,0102	0,0045
10	225	0,0398	0,0177	0,0301 0,0310	0,0306	0,0136	0,0092	0,0041
11	225	0,0398	0,0177	0,0299 0.0303	0,0301	0,0133	0,0097	0,0044
12	250	0,0160	0,0064	0,0166 0,0158	0,0162	0,0065	0	0
13	250	0,0160	0,0064	0,0134 0,0134	0,0134	0,0054	0,0026	0,0010

Fortsetzung der Tabelle I.

No.	Flüssigkeit.	Pepton						
		zugesetzt.		wieder gefunden			verloren.	
	cbcm.	gr.	%	gr.	Mittel.	%	gr.	%
14	250	0,0320	0,0128	0,0291 0,0257	0,0273	0,0109	0,0047	0,0019
15	250	0,0160	0,0064	0,0130 0,0130	0,0130	0,0052	0,0030	0,0012
16	230	0,0218	0,0095	0,0157 0,0157	0,0157	0,0068	0,0061	0,0027
17	190	0,0218	0,0114	0,0164 0,0164	0,0164	0,0086	0,0054	0,0028
18	200	0,0199	0,0100	0,0152 0,0151	0,0152	0,0076	0,0047	0,0024
19	190	0,0199	0,0104	0,0142 0,0144	0,0143	0,0075	0,0056	0,0029

Nach diesen Zahlen ist der Verlust an Pepton unabhängig von der Menge des der Milch zugesetzten Peptons; er betrug unter der Voraussetzung, dass die Milch kein Pepton enthält, im Mittel 0,0053 gr. oder es gingen für je 100 cbcm. Endflüssigkeit im Mittel 0,0024 gr. Pepton verloren.

Um zu erfahren, welchen Einfluss die Milch, aus welcher das Pepton isolirt worden war, als solche auf den Verlust an Pepton ausübt, habe ich noch einige Versuche angestellt, bei welchen bekannte Mengen Pepton statt in Milch in Wasser vertheilt wurden. In dieser Lösung wurde dann ein Eisenoxydniederschlag erzeugt, gerade so, wie es bei der Milch geschehen war, das Volumen der Flüssigkeit sowie die zugesetzte Menge Eisenchlorid waren denen in den Versuchen mit Milch gleich. Es wurden dabei folgende Werthe gefunden:

Tabelle II.

No.	Flüssigkeit.	Pepton						
		zugesetzt.		wieder gefunden.			verloren.	
	cbcm.	gr.	%	gr.	Mittel.	%	gr.	%
1	250	0,0320	0,0128	0,0159 0,0189 0,0161	0,0170	0,0068	0,0150	0,0060
2	180	0,0392	0,0206	0,0299 0,0299	0,0299	0,0157	0,0093	0,0049

In diesen zwei Versuchen belief sich der Verlust an Pepton also auf 0,0093 und 0,0150 gr. oder pro 100 cbcm. Endflüssigkeit auf 0,005 und 0,006 gr.; er erreichte und überstieg demnach sogar die höchsten Werthe der bei der Milch bisher zum Vorschein gekommenen Verluste.

Die Einbusse an Pepton ist, wie sich vermuthen lässt, hauptsächlich dadurch bedingt, dass ein Theil von dem Niederschlag zurückgehalten wird. Dass dem so ist, ergiebt sich aus dem Umstande, dass sich der Verlust an Pepton, wenn auch nicht völlig beseitigen, doch erheblich vermindern lässt, wenn man den Eisenoxydniederschlag, nachdem man die Flüssigkeit von ihm abgegossen hat noch mit Wasser auskocht. In zwei solchen Versuchen, welche im Uebrigen unter ganz denselben Umständen angestellt waren, wie der 2. Versuch in der 2. Tabelle, betrug der Verlust an Pepton nur 0,0018 und 0,0033 gr.

Zu den bisher beschriebenen Versuchen dienten immer nur 40 cbcm. Milch. Da aber zum Aufsuchen des Peptons in der Milch grössere Mengen derselben verwendet werden sollten, so musste noch untersucht werden, welchen Einfluss die Menge der Milch auf den Peptonverlust ausübt. Im Ganzen wurden 8 solche Versuche, in 4 Paaren angestellt. Zu je 2 Paaren diente dieselbe Milch, aber in verschiedener Menge. Von den Paaren wurde immer je in einem Versuch der Niederschlag noch einmal ausgekocht. In der folgenden Tabelle sind die Verluste, welche die ausgekochten Proben auswiesen, mit * bezeichnet.

Tabelle III.

No.	Flüssigkeit.	Pepton							Milch.
		zugesetzt.		wiedergefunden.			verloren.		
	cbcm.	gr.	%	gr.	Mittel.	%	gr.	%	cbcm.
1	250	0,0392	0,0156	0,0265 0,0238	0,0254	0,0102	0,0138	0,0054	40
2	200		0,0195	0,0303 0,0294	0,0299	0,0150	0,0093*	0,0045	
3	330		0,0118	0,0311 0,0285	0,0298	0,0091	0,0094	0,0027	80
4	200		0,0195	0,0286 0,0279	0,0283	0,0142	0,0109*	0,0053	
5	250		0,0156	0,0242 0,0231	0,0237	0,0095	0,0155	0,0061	40
6	140		0,0279	0,0305 0,0299	0,0302	0,0216	0,0090*	0,0063	
7	350		0,0111	0,0238 0,0238	0,0238	0,0068	0,0154	0,0043	120
8	150		0,0261	0,0258 0,0278	0,0268	0,0179	0,0124*	0,0082	

Die soeben angeführten Versuche beweisen, dass es ziemlich gleichgültig ist, ob sich das Pepton in einer grösseren oder kleineren Menge Milch befindet; der Verlust beträgt, wenn der Niederschlag nicht ausgekocht wird bei 40 cbcm. Milch 0,0147 gr., bei 80 cbcm. 0,0094, bei 120 cbcm. 0,0154 gr.; er ist hier höher als in den früheren entsprechenden Versuchen. Durch Auskochen des Niederschlages lässt sich der Verlust um eine geringe Grösse vermindern; er macht bei 40 cbcm. 0,0092, bei 80 cbcm. 0,0109, bei 120 cbcm. 0,0124 gr. aus. Auf 100 cbcm. Endflüssigkeit gingen im Mittel aller dieser Versuche 0,0054 gr. Pepton verloren.

Fasst man die bisher erlangten Erfahrungen zusammen, so ergiebt sich, dass beim Nachweis des Peptons in der Milch

immer ein kleiner Verlust statt hat und zwar hauptsächlich dadurch, dass der Eisenniederschlag Pepton zurückhält. Dieser Verlust ist bei Verwendung von Milch als Lösungsmittel des Peptons nahezu ebenso gross, wie wenn das Pepton aus wässeriger Lösung isolirt wird. Das der Milch zugesetzte Pepton erfährt also bei seiner Wiedergewinnung keinen merklichen Zuwachs. Schon hieraus lässt sich der Schluss ziehen, dass in der Milch Pepton entweder gar nicht oder im günstigsten Falle nur in Spuren enthalten sein könne.

Der Gehalt der Milch an Pepton. Dieses Resultat ergiebt sich in noch überzeugenderer Weise bei der direkten Untersuchung der Milch auf Pepton. Ich habe für diesen Zweck frische Milch von 12 verschiedenen Kühen verwendet, und zwar 2 mal in der Menge von 0,5 Liter, 10 mal in der Menge von 1 Liter. Die Milch wurde mit einem Volumen Wasser verdünnt und wie in den früheren Versuchen mit Eisenchlorid ausgefällt; in 8 der 12 Proben ist der Niederschlag noch mit Wasser ausgekocht worden. In den Filtraten war das Pepton aufzusuchen. Da nach den bisherigen Erfahrungen bestenfalls nur Spuren von Pepton zu erwarten waren, so waren die grossen Volumen der Filtrate für den direkten Nachweis des Peptons nicht geeignet, das etwa vorhandene Pepton musste daher auf ein kleineres Volumen gebracht werden. Anderseits war zu bedenken, dass die Reaktion mit Ferrocyanwasserstoff doch auch ihre Grenzen hat, dass also in den Filtraten noch der Fällung entgangene Spuren von Eiweiss enthalten sein konnten, welche zumal bei dem starken Salzgehalt der Flüssigkeit, durch das Reagens nicht mehr angezeigt würden. In concentrirter Lösung hätten sie aber sehr wohl eine Biuretreaktion geben und so zur Verwechslung mit Pepton führen können. Diese Reste der Eiweisssubstanz musten daher vor der Anstellung der Biuretprobe entfernt werden.

Diese beiden Zwecke konnten in folgender Weise erreicht werden. Das jeweilige Filtrat wurde nach Zusats von 0,1 Volumen concentrirter Salzsäure mit Phosphorwolframsäure vollständig

ausgefällt, der Niederschlag auf einem kleinen Filter gesammelt und mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 20) gewaschen, bis kein Milchzucker mehr nachweisbar war, der ja, nach Schmidt-Mülheim, die Biuretprobe stören soll. Der Niederschlag wurde darauf mit wenig Wasser vollständig vom Filter weggespült und in Natronlauge gelöst; das Volumen der Lösung betrug 40—50 cbcm.; sie besass eine hellgelbe Farbe und gab sowohl mit Fehling'scher Flüssigkeit als auch direkt mit Kupfersulphat und Natronlauge eine mehr oder weniger deutliche Biuretreaktion. Da diese, wie bemerkt, von anderen Eiweisssubstanzen als von Pepton herrühren konnte, so wurde die Fällung mit Eisenchlorid wiederholt. Es wurde die Phosphorwolframsäure durch Chlorbaryum entfernt und das Filtrat durch einen kleinen Ueberschuss von Schwefelsäure von dem überschüssigen Baryt befreit. Die Entfernung des Baryts war darum nöthig, weil Ferrocyanwasserstoff auch mit Baryt einen Niederschlag giebt. Die Flüssigkeit wurde dann mitsammt dem Baryumsulphat mit wenig Eisenchlorid (höchstens einige cbcm.) behandelt. Liess sich jetzt in einer kleinen Probe der so erhaltenen klaren Flüssigkeit mit Ferrocyanwasserstoff keine Trübung mehr erhalten, so wurde filtrirt und mit dem Filtrat die Biuretprobe angestellt. In keiner der 12 verschiedenen Proben wurde mit Fehling'scher Flüssigkeit oder mit Kupfersulphat und Natronlauge eine Spur einer Biuretfärbung wahrgenommen, auch nicht in einer 10 cm. dicken Schichte (im Glaskästchen). Die Flüssigkeit bot nichts weiter dar, als eine kaum wahrnehmbare grünlichblaue Färbung am Meniscus. Genau dieselbe Färbung konnte aber erhalten werden, wenn statt mit dem Milchfiltrat mit Wasser die Biuretreaktion angestellt wurde. In beiden Fällen waren die Proben einander so ähnlich, dass sie sich mit einander verwechseln liessen.

Die Untersuchung der Frauenmilch führte zu keinem anderen Resultate als die der Kuhmilch. Von dieser habe ich 4 Versuche mit je 500—660 cbcm. angestellt. [1]) Die Milch

[1]) Das überaus reiche Material an Frauenmilch, welches ich zu meiner Untersuchung benutzen konnte, habe ich dem freundlichen Ent-

abtheilungen sich deutlich in den Ergebnissen des Filtrats ausdrückt. Wo zwischen zwei Versuchen die Unterschiede in der Temperatur bedeutende waren: 10°—15°—20°, da sind auch die Filtratmengen dementsprechend um das Doppelte, ja Dreifache von einander verschieden, wo die Unterschiede nur 5—8° betragen, da zeigen auch die Filtrate weit kleinere Differenzen. Man vergleiche z. B. Versuch 2:

		Menge.	fest. Rückst.	organ.
a)	35°	15,9755	0,325	0,283
b)	16¼°	8,8345	0,1735	0,135
Versuch 5:				
a)	20°	17,026	0,3065	0,2725
b)	38¾°	31,7095	0,7305	0,6365
Versuch 11:				
a)	13°	3,495	0,266	0,233
b)	30°	9,048	0,709	0,645

u. a., und halte dem gegenüber die Resultate folgender Versuche:

Versuch 7:				
b)	37½°	5,998	0,139	0,123
c)	42½°	6,645	0,1524	0,1385
Versuch 8:				
a)	38¾°	6,7025	0,140	0,121
b)	42½°	7,2755	0,1465	0,1315
c)	37½—38½°	6,665	0,136	0,114
d)	42½°	7,6885	0,157	0,141

ferner auch Versuch 10 und 13, bei welchen zwischen den einzelnen Abtheilungen sowohl grössere wie geringere Differenzen liegen.

Von einer Reihe von Werthen, die ich in der letzten Columne der Versuchstabellen mit aufgeführt habe, und welche die Verhältnisse der anorganischen Substanzen betreffen, ist bisher noch nicht die Rede gewesen, und wenn dies auch nicht direkt zum Thema gehört, so will ich doch mit einigen Worten darauf hinweisen.

Bei allen denjenigen Versuchen, bei welchen ich die Temperaturunterschiede gross nahm, zeigt sich auch hier in allen Fällen — einen einzigen ausgenommen — eine Zunahme

der absoluten Werthe bei steigender Temperatur. Bei den Versuchen mit geringen Temperaturdifferenzen schwanken dagegen die Resultate; in Versuch 7 und 8 habe ich eine, wenn auch geringe, so doch deutliche Abnahme, in Versuch 12, der sich in denselben Temperaturgrenzen bewegt, ebenso wie im Vorversuch und im Versuch 6 zwischen b und c, habe ich Erhöhungen zu constatiren. — Bei der Kleinheit der Werthe, um welche es sich handelt und welche einerseits mit der geringen Menge anorganischer Substanz, die überhaupt vorhanden ist, andererseits mit der geringen Temperaturdifferenz zusammenhängt, bei dem Zwiespalt der Resultate, die eine Auffassung in dem einen oder anderen Sinne zulassen, und endlich der Analogie der bisher gefundenen Thatsachen folgend, möchte ich mich der Annahme zuneigen, dass auch die Menge der anorganischen Substanzen zunehme — freilich weniger als die Flüssigkeitsmenge und in geringerem Massstabe als die der organischen, ein Punkt, auf den ich bei Darlegung der Verhältnisse zurückkommen werde, welche die relativen d. h. procentischen Filtratmengen betreffen. —

Eben diese procentischen Werthe etwas genauer zu betrachten, dazu will ich jetzt, nachdem ich die absoluten Werthe ausführlich besprochen habe, übergehen. — Auch hier werde ich die anorganischen von den organischen Werthen gesondert behandeln, werde jedoch der besseren Vergleichung halber beide Werthe in der nächsten Tabelle neben einander stellen. Wie oben angegeben, sind diese Werthe aus der absoluten Menge der filtrirten festen Bestandtheile im Verhältniss zur Menge der filtrirten Flüssigkeit berechnet, und zwar wurden der Gesammtrückstand, die organischen und anorganischen Stoffe für sich gesondert berechnet, um aus der Addition der letzteren zugleich eine Probe für die Richtigkeit aller drei Resultate zu haben. Es ergab sich Folgendes:

		Temp.	Menge gr.	fest. Rückst. %	organ. %	anorgan. %
Versuch	2.	Verd. Blutserum		**2,366**	**2,088**	**0,283**
	a)	35°	15,9755	2,034	1,771	0,262
	b)	16¼°	8,8345	1,964	1,528	0,435

wurde ebenso behandelt wie die Kuhmilch, nur wurde nach der Fällung mit Eisenchlorid nicht mit Ferrocyanwasserstoff auf Spuren Eiweiss geprüft, sondern mit Phosphorwolframsäure oder, da Metaphosphorsäure das Pepton nicht fällt, mit dieser. Diese Abweichung von dem gewöhnlichen Verfahren erwies sich darum als nöthig, weil die Flüssigkeit bei der Prüfung mit Ferrocyanwasserstoff einen Niederschlag von Berlinerblau gab. Der Milchzucker, an welchem die Frauenmilch ja reicher ist als die Kuhmich, hatte Eisenoxyd in Lösung gehalten. In keinem Falle wurde zuletzt eine violette Färbung erhalten; die eiweissfreie Flüssigkeit wurde, wie die von der Kuhmilch, nur bläulich grün.

Der Ausfall meiner Untersuchung berechtigt also nicht zu der Annahme, dass die frische Frauen- und Kuhmilch Pepton enthält.

Das Schmidt-Mülheim'sche Verfahren. Meinem negativen Befund steht der positive von Schmidt-Mülheim entgegen. Es bleibt nun noch zu prüfen übrig, weshalb unsere Resultate verschieden ausgefallen sind. Schmidt-Mülheim führte den Nachweis des Peptons in folgender Weise. Es wurden 20—40 cbcm. Milch mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt, mit Kochsalz gesättigt und ein dem Gemisch ungefähr gleiches Volumen, von 1 Volumen Eisessig mit 5 Volumen concentrirter Kochsalzlösung hinzugefügt. Das Filtrat, welches mit Blutlaugensalz keine Spur einer Trübung erkennen liess, wurde mit Phosphorwolframsäure versetzt. Der Niederschlag gesammelt, gewaschen, und in Natronlauge gelöst. Die Lösung gab mit Kupfersulphat Biuret-

---

gegenkommen des Direktors des Prager Findelhauses, Hrn. Professor Epptein zu verdanken. An die Findelanstalt werden alle diejenigen im Gebärhaus geborenen Kinder abgeliefert, welche die Mütter nicht selbst zu sich nehmen. Aus der Anstalt werden sie an Frauen vom Lande in Pflege gegeben. Diese haben sich vor der Uebernahme der Kinder als genügend milchreich auszuweisen, und pflegen, ehe sie sich vorstellen, die Milch sich stauen zu lassen. Es konnten so von mehreren Frauen mit Leichtigkeit 500 cbcm. und mehr Milch auf einmal gewonnen werden.

färbung. Schmidt-Mülheim fasste also eine Substanz, welche in essigsaurer Lösung mit Ferrocyankalium keinen Niederschlag gab, durch Phosphorwolframsäure gefällt wurde und die Biuretfärbung zeigte als Pepton auf. Man könnte dieser Anschauung beipflichten, wenn die Prüfung mit Blutlaugensalz unter den gegebenen Verhältnissen verlässlich wäre. Allein das ist sie nicht; bei Gegenwart von viel Salz entgehen kleine Mengen Eiweiss der Fällung mit Ferrocyanwasserstoff; um solche kleine Mengen handelt es sich aber in dem vorliegenden Falle. Es bleibt also für die Charakterisirung der Substanz als Pepton nur die Fällbarkeit derselben durch Phosphorwolframsäure und die Biuretfärbung übrig. Diese sind aber allen Eiweisskörpern eigenthümlich.

Nachdem ich mich davon überzeugt hatte, dass man mittels Eisenchlorid alle Eiweisskörper aus der Milch, mit Ausnahme des Peptons, entfernen kann, habe ich dieses Verfahren auch zur Untersuchung der von Schmidt-Mülheim als Pepton aufgefassten Substanz angewandt. Ich habe dazu zweimal je 100 cbcm. frische Kuhmilch in Arbeit genommen. Jede Portion wurde mit einem Volumen Wasser verdünnt, mit 175 cbcm. der Mischung von Eisessig und concentrirter Kochsalzlösung versetzt, und die Flüssigkeit nach einigem Stehen filtrirt, das Filtrat erschien völlig klar und hatte eine strohgelbe Farbe. Jetzt sollte mit Phosphorwolframsäure gefällt werden. Da aber die Eiweisskörper durch Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von Essigsäure nur unvollständig abgeschieden werden, so wurde die Flüssigkeit vorher noch mit 0,1 Volumen concentrirter Salzsäure versetzt. Der reichliche flockige Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 20) gewaschen, zuletzt in Natronlauge gelöst, und die Lösung auf 50 cbcm. aufgefüllt. Das Filtrat davon besass eine intensiv gelbe Farbe und nahm (in einer Probe) auf Zusatz sowohl von Kupfervitriol als von Fehling'scher Lösung eine blaue Färbung an, welche jedoch nach einiger Zeit einer ziemlich deutlichen rosenrothen wich. Die Flüssigkeit wurde nun, nach Entfernung der Phosphorwolframsäure in beschriebener Weise, mit Eisenchlorid (4 cbcm.)

behandelt und dabei eine farblose Flüssigkeit gewonnen, welche mit Ferrocyanwasserstoff keine Spur einer Trübung mehr zeigte. Auf Zusatz von Natronlauge und Kupfersulphat nahm sie eine leicht grünlich-blaue Färbung ohne die geringste Spur eines rosenrothen oder violetten Tones an; diese Färbung änderte sich auch im Verlauf mehrerer Stunden nicht.

Es kann daher keinem Zweifel unterliegen, dass die Substanz, welche Schmidt-Mülheim für Pepton gehalten hat, nur ein Rest der gewöhnlichen Eiweisskörper der Milch gewesen ist. Es lässt sich also im Einklang mit meinen anderen Erfahrungen auch durch das Schmidt-Mülheim'sche Verfahren kein Pepton in der Milch nachweisen.

Das Lactoprotein. Wenn man aus der Milch das Casein durch Säure, das Albumin durch Kochen entfernt, bleibt bekanntlich noch Eiweisssubstanz in Lösung. Woraus diese besteht, darüber gehen die Meinungen noch auseinander. Manche halten sie für einen peptonartigen Körper oder, wie Struve[1]), gradezu für Pepton. Gegen diese Meinung hat man jedoch geltend gemacht, und Struve[2]) thut das selbst, dass die Fällung der Eiweiskörper der Milch keine ganz vollständige ist, und deshalb halten Andere die fragliche Substanz für einen Rest Casein oder Albumin. Dass es sich jedoch dabei keineswegs um Pepton handelt, ergiebt sich aus folgender Untersuchung.

Es wurden 100 cbcm. ganz frische Kuhmilch auf 2 Liter verdünnt, mit Essigsäure bis zum Beginn eines Niederschlages versetzt, dann noch ½ Stunde mit einem lebhaften Strome Kohlensäure behandelt. Das wasserklare Filtrat wurde zum Kochen erhitzt. Bei nochmaligem Filtriren wurde eine leicht opalisirende Flüssigkeit erhalten, welche mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure ausgefällt wurde. Diesen Niederschlag, in welchem sich durch die Biuretprobe leicht Eiweiss nachweisen liess, verarbeitete ich in der mehrfach angegebenen Weise und erhielt zuletzt ein kleines Volumen einer kaum

---

1) Struve, Journal für praktische Chemie [2], Bd. 29, S. 73. 1884.
2) Struve, daselbst S. 84.

gelblichen Flüssigkeit, welche nun keine Spur einer Biuretfärbung mehr gab. — Diesen Versuch habe ich noch einmal mit demselben Erfolge wiederholt.

Das Gesammtresultat der vorstehenden Untersuchung lässt sich dahin zusammenfassen, dass in der Milch mit den schärfsten und besten Methoden kein Pepton aufgefunden werden kann, dass also die Milch kein Pepton enthält, oder wenn dennoch, nur in so geringen Spuren, dass es sich dem Nachweis entzieht. Zwischen der Frauen- und der Kuhmilch findet in dieser Hinsicht kein Unterschied statt.

II. Vergleichung der Frauen- und der Kuhmilch.

Bei der Prüfung der Milch auf Pepton habe ich nicht blos die Kuhmilch, sondern auch die Frauenmilch in den Bereich der Untersuchung gezogen. Eine derartige Vergleichung der beiden Milchsorten habe ich noch auf einige andere Punkte ausgedehnt in der Absicht, diejenigen Umstände aufzusuchen, welche die Verschiedenheit der beiden Milchsorten bedingen. Von den wenigen Resultaten, welche ich im Folgenden mitzutheilen habe, hoffe ich, dass sie eine brauchbare Unterlage für die weitere Bearbeitung der Frage abgeben können.

A. Die Caseine.

Das Hauptgewicht muss bei der Bearbeitung der gestellten Aufgabe jedenfalls auf eine Vergleichung der Caseine beider Milchsorten gelegt werden. Ein dieselbe betreffender wichtiger Punkt, nämlich die Fällbarkeit des Frauenmilchcaseins durch Säure, hat bereits durch die gleichzeitigen Untersuchungen von E. Pfeiffer[1]) und J. Schmidt[2]) seine Erledigung gefunden.

---

[1]) E. Peiffer, Berliner klinische Wochenschrift, 1882, Nr. 44, S. 666. — Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 22, S. 14. 1883. — Jahrbuch für Kinderheilkunde, N. F., Bd. 19, S. 463; im Auszug Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 23, S. 445. 1885.

[2]) J. Schmidt, Materialien zur Erklärung der Eigenschaften der Frauen- und Kuhmilch. Dissertation. Moskau 1882. (Russisch.)

Von diesen zwei Methoden beschreibe ich die Schmidt's noch einmal, weil sie die Aehnlichkeit beider Caseine in noch überraschenderer Weise darthut, als die Pfeiffer's, und weil ich sie selbst mehrfach benützt habe.

Schmidt hat 20 cbcm. Milch auf das Zehnfache verdünnt, auf 40° erwärmt, tropfenweise mit 0,4procentiger Essigsäure versetzt, bis ein körniger Niederschlag entstand, dann noch ½ Stunde lang Kohlensäure eingeleitet und 20—24 Stunden stehen lassen. Die Fällung ist, wie es scheint, quantitativ. Das Verfahren von Schmidt ist also dem von Hoppe-Seyler für die Kuhmilch ganz analog. Man könnte demnach sagen, dass sich in dieser Hinsicht das Casein aus der Frauenmilch wie das der Kuhmilch verhält, wenn nicht sowohl nach der Methode von Pfeiffer als nach der von Schmidt zur Gewinnung eines Niederschlags das Erwärmen der Milch nöthig wäre, wovon ich mich selbst überzeugt habe. Der Unterschied ist jedoch kein principieller, das Casein vielmehr auch bei gewöhnlicher Temperatur fällbar, wie aus folgender Erfahrung von Struve [1]) hervorgeht. Derselbe dialysirte Frauenmilch in Thierblase gegen Chloroformwasser und erhielt dabei ein vollkommen klares, alkalisches Diffusat, welches nach vorsichtigem Ansäuern mit verdünnter Essigsäure und nach dem Durchleiten von Kohlensäure einen Niederschlag von Casein gab. Es scheinen also beim Fällen des Caseins aus der nativen Milch Substanzen, welche bei der Dialyse zurückbleiben, das Auftreten des Niederschlags zu verhindern oder ihn der Wahrnehmung zu entziehen.

Bei dem Verfahren von Pfeiffer sowohl wie dem von Schmidt fällt das Casein aus der Frauenmilch immer in feinen und zarten, keineswegs in so grossen und derben Flocken aus, wie aus der Kuhmilch. Ich habe nun zu ermitteln versucht, wodurch der Unterschied in der Grösse und Consistenz der Caseinflocken bedingt sein könnte. Die verschiedene Concentration macht ihn, wie bekannt und wie ich selbst erfahren habe, nicht aus. Dagegen hat der Salzgehalt einen gewissen

---

1) Struve, a. a. O., Bd. 29, S. 111. 1884.

Einfluss. Die Frauenmilch enthält im Verhältniss zu den Eiweisskörpern weniger Salze als die Kuhmilch. Ich habe nun unter Benützung der von Bunge ermittelten Zusammensetzung der Milchasche den Gehalt der Frauenmilch an einzelnen Salzen auf dieselbe Höhe gebracht wie den der Kuhmilch, und dann das Casein gefällt. Es kamen von Salzen der Reihe nach und zwar auf 50 cbcm. Milch in folgender Menge zur Verwendung: Chlornatrium (1 cbcm. gesättigte Lösung), Chlorcalcium (2,8 cbcm. einer Viertelnormallösung), zweifach saures Kaliumphosphat (4,3 cbcm. Viertelnormallösung) und endlich einfach saures Natriumphosphat (ebenso viel wie vom zweifach sauren Phosphat und die zur Ueberführung des Salzes in zweifach saures erforderliche Menge Essigsäure). Die Milch wurde auf das Vierfache verdünnt, mit der ausprobirten, zur Fällung nöthigen Menge Essigsäure, in einer zweiten Reihe mit Salzsäure versetzt und nach Schmidt weiter behandelt. In allen acht Proben bildeten sich grobflockige, schnell zu Boden sinkende, wenn auch nicht ganz so compacte Niederschläge wie in Kuhmilch. Aus diesen Versuchen ist also ersichtlich, dass die Caseinniederschläge aus Frauenmilch bei einem erhöhten Salzgehalt denen aus Kuhmilch ganz ähnlich werden.

Nachdem es möglich geworden war, das Frauencasein nach wesentlich derselben Methode und ebenso unverändert aus der Milch abzuscheiden wie das Kuhcasein, habe ich beide Caseine in ihrem Verhalten zu Reagentien mit einander verglichen. Ein Versuch dazu wurde bereits von Biedert[1]) zu einer Zeit gemacht, als man das Casein der Frauenmilch noch nicht zu isoliren wusste. Biedert verglich diese beiden Milcharten direkt mit einander, oder die Alkoholniederschläge derselben oder endlich Lösungen dieser zum Theil unlöslich gewordenen Niederschläge in Alkali. Diese Bestrebungen konnten begreiflicher Weise zu keinem befriedigenden Resultat führen.

---

[1]) Biedert, Untersuchungen über die chemischen Unterschiede der Menschen- und Kuhmilch. Dissertation. Giessen 1869; 2. Aufl. Stuttgart 1884. — Virchow's Archiv, Bd. 60, S. 352. 1874.

Das Kuhcasein zu diesen Versuchen habe ich nach Hoppe-Seyler dargestellt und durch Decantiren chlor- und zuckerfrei gewaschen. Zur Darstellung des Frauencaseins habe ich die Methoden von Pfeiffer und Schmidt combinirt. Es wurde nämlich mit kleinen Quantitäten Milch die zum Fällen des Caseins erforderliche Säuremenge ermittelt, die Milch, welche gefällt werden sollte, hier ohne Salzzusatz, auf das Vierfache verdünnt, auf 40⁰ erwärmt, mit der berechneten Menge Säure versetzt und mit Kohlensäure behandelt. Es wurde stets Salzsäure zum Fällen verwendet, jedoch in grösserer Verdünnung, als Pfeiffer angiebt, weil sich die verdünntere besser zum Ausprobiren der nöthigen Säuremenge eignet. Die Säure, welche Pfeiffer verwendet, ist ungefähr sechstelnormal; ich habe mich entweder doppelt so verdünnter oder auch zehntelnormaler bedient. Von der $^1/_{10}$-Säure habe ich in den folgenden und vielen anderen Versuchen auf 100 cbcm. Milch durchschnittlich 20 cbcm. (= 0,075 gr. HCl) verbraucht mit Schwankungen von 1 cbcm. darüber und darunter. Wenn man den Säurezusatz von vornherein richtig getroffen hat, ist das Einleiten von Kohlensäure wohl überflüssig, aber es hat dann doch noch den Vortheil, dass die Milch fortwährend gemischt wird und in allen Schichten die gleiche Temperatur besitzt. Auch dieser Niederschlag wurde chlor- und zuckerfrei gewaschen und dazu centrifugirt, jedoch, zur Verhütung der Fäulniss, unter Zusatz einer kleinen Menge Aether.

Endlich wurden die beiden Caseine in gelinder Wärme in der gerade hinreichenden Menge Natronlauge gelöst und zur Entfernung eines Restes von Fett durch nasse Filter filtrirt. Die Filtrate waren immer trüb. Besassen sie noch schwache alkalische Reaktion, so wurden sie mit einem kleinen Ueberschuss von Essigsäure versetzt und nochmals filtrirt.

Die Lösungen zeigten nun folgendes Verhalten. Das Frauencasein gab mit Alkohol eine sehr geringe Trübung, bei gleichzeitiger Gegenwart von etwas Kochsalzlösung einen feinkörnigen Niederschlag; mit Tannin gab es einen gallertartigen Niederschlag, der sich in Natron und Ammoniak löste, dagegen

nicht in Säuren. Chlorcalcium erzeugte in der Kälte eine Trübung, beim Kochen einen reichlichen Niederschlag, der beim Erkalten blieb. Magnesiasulphat bewirkte in der Kälte eine sehr schwache Trübung, beim Kochen einen feinflockigen Niederschlag, welcher im Gegensatz zu dem Calciumniederschlag wieder verschwand. Mit essigsaurem Blei wurde ein grober, im Ueberschuss unlöslicher, aber in Natron, sowie in Essigsäure löslicher Niederschlag erhalten; schwefelsaures Kupfer gab einen im Ueberschuss unlöslichen, in Natron und in verdünnter Schwefelsäure löslichen Niederschlag, salpetersaures Silber einen im Ueberschuss unlöslichen, in Ammoniak und in Essigsäure löslichen Niederschlag; salpetersaures Quecksilberoxyd und Quecksilberchlorid gaben Niederschläge, die sich nicht im Ueberschuss, wohl aber in Natron, sowie in Essigsäure lösten. Eisenchlorid erzeugte einen in Natronlauge löslichen, aber in Salzsäure selbst beim Kochen unlöslichen Niederschlag.

Das Kuhcasein verhielt sich ebenso wie das Frauencasein; nur schien sich der Bleiacetatniederschlag ein wenig im Ueberschuss des Reagens und der Eisenchloridniederschlag etwas in heisser Salzsäure zu lösen. Diese Abweichungen in den Reaktionen sind zu geringfügig, als dass man daraus eine gänzliche Verschiedenheit der beiden Caseine ableiten könnte.

Mit dem Casein habe ich noch ein Natronalbuminat verglichen. Es wurde in folgender Weise aus einem Serumalbumin bereitet, welches durch Magnesiumsulphat völlig vom Globulin befreit war. Die salzhaltige Lösung wurde mit Wasser verdünnt, unter Zusatz der nöthigen Menge Säure durch Kochen coagulirt, der Niederschlag mit heissem Wasser salzfrei gewaschen und dieser endlich in einem geringen Ueberschuss verdünnter Natronlauge in der Wärme gelöst. Die Lösung wurde mit einem kleinen Ueberschuss von Essigsäure versetzt und die neutrale Flüssigkeit filtrirt.

Die Lösung gab mit Alkohol eine Trübung, welche sich beim Stehen als flockiger Niederschlag absetzte; der Niederschlag war jedenfalls wegen des relativ starken Salzgehalts der Lösung entstanden. Tannin schied eine Gallert ab, welche

sich in Natronlauge, aber auch in viel Essigsäure löste, was bei den Caseinen nicht der Fall war. Chlorcalcium lieferte in der Kälte eine Trübung, beim Kochen einen reichlichen flockigen Niederschlag. Magnesiumsulphat erzeugte in der Kälte eine kaum merkliche Trübung, beim Kochen einen flockigen Niederschlag, der beim Erkalten nicht wieder verschwand und sich auch nicht in Essigsäure löste, während das Magnesiumcaseinat beim Erkalten der Flüssigkeit wieder in Lösung ging. Essigsaures Blei erzeugte einen reichlichen, in Natron und in Essigsäure, aber, im Gegensatz zum Casein, auch im Ueberschuss des Reagens löslichen Niederschlag. Gegen Kupfersulphat, Silbernitrat, Quecksilbernitrat und Quecksilberchlorid verhielt sich das Albuminat wie das Casein. Der Eisenchloridniederschlag, der beim Casein in Salzsäure unlöslich war, löste sich hier in Salzsäure und in Essigsäure.

Die Differenzen zwischen dem Albuminat und dem Casein sind also bei Weitem beträchtlicher als die zwischen den beiden Caseinen, so dass man schon deshalb das Albuminat, welches zu den Versuchen diente, mit dem Casein nicht identificiren könnte.

Endlich habe ich auch auf Frauenmilch direkt die angeführten Reaktionen angewendet, hauptsächlich deshalb, weil Biedert diese unreine Caseinlösung zu seiner Untersuchung benützt hat. Es ergaben sich dabei einige im Folgenden aufgezählte Abweichungen von den Reaktionen des Caseins.

Die Frauenmilch habe ich vorher mit Essigsäure neutralisirt. Sie wurde durch Alkohol viel leichter gefällt als die reine Caseinlösung; Chlorcalcium, sowie Magnesiumsulphat gaben beim Kochen mit der Milch keine Niederschläge, und der Quecksilberchloridniederschlag aus der Milch war zwar in Essigsäure etwas löslich, in Natronlauge aber unlöslich. Die leichtere Fällbarkeit der Milch durch Alkohol liesse sich schon aus der Anwesenheit der Krystalloidsubstanzen in der Milch erklären. Ein geringer Calcium- und Magnesiumniederschlag konnte in dem trüben Medium wohl übersehen werden. Das abweichende Verhalten des Quecksilberchloridniederschlages könnte auf die Gegenwart anderer Substanz bezogen werden.

Die Vergleichung der beiden Caseine habe ich noch auf einige andere Eigenschaften ausgedehnt.

Wenn man Casein in Wasser suspendirt und durch vorsichtigen Zusatz von Natronlauge löst, so zeigt die Flüssigkeit alsbald saure Reaktion, die an Stärke, je mehr Casein in Lösung geht, anfangs zu-, dann wieder abnimmt und endlich einer völlig neutralen Platz macht. Diese Erscheinung lässt sich am einfachsten durch die Annahme erklären, dass das Casein ein sauer reagirendes lösliches saures und ein neutral reagirendes normales oder neutrales Salz bildet. Beide Caseine verhalten sich in dieser Hinsicht gleich.

Erwärmt man eine völlig neutrale Caseinlösung, so trübt sie sich. Die Trübung trat in einer Probe bei ungefähr 44^0 auf und war in der Siedehitze am stärksten. Beim Erkalten verschwindet die Trübung wieder, vollständig, wenn das Erhitzen nicht sehr lang gedauert hat. Ein eigentlicher flockiger Niederschlag entsteht nicht. Schwach alkalische Lösungen zeigen diese Erscheinung nicht oder nur in geringem Grade. Auch in dieser Hinsicht unterscheiden sich die beiden Caseine nicht von einander.

Ich habe ferner neutrale Lösungen beider Caseine in Pergamentschläuchen der Dialyse unterworfen. In beiderlei Proben gingen binnen 24 Stunden nur Spuren Eiweisssubstanz in das Aussenwasser über. Das Eiweiss war erst nach dem Eindampfen der Flüssigkeit auf ein kleines Volumen nachweisbar; aber auch dann gab Phosphorwolframsäure in der mit Salzsäure versetzten Flüssigkeit keinen Niederschlag, sondern nur eine Trübung.

Von besonderer Bedeutung scheint mir in der vorliegenden Frage auch das Verhalten der Caseine bei der Pepsinverdauung zu sein. Das Casein der Kuhmilch unterscheidet sich hierbei insofern von den meisten anderen Eiweisssubstanzen, dass es einen in der Verdauungssalzsäure unlöslichen Niederschlag von Nuclein giebt. Ganz ebenso verhielt sich auch das Casein der Frauenmilch; die Lösung desselben trübt sich bei der Verdauung mit der Dauer des Versuchs immer mehr und mehr

und kann endlich schwach gelatinös werden; der entstandene Niederschlag löst sich leicht beim Uebersättigen mit Natronlauge.

Die Verdauungsversuche habe ich noch von einem andern Gesichtspunkte aus unternommen. Identische Eiweisskörper müssen, wenn sie unter gleichen Verhältnissen verdaut werden, auch nach Menge und Art gleiche Produkte liefern. Ob dieser Fall eingetreten ist, darüber kann man sich in einfacher Weise dadurch Auskunft verschaffen, dass man das gebildete Pepton isolirt und seine Menge polarimetrisch bestimmt.

Diesen Versuch habe ich mit den beiden Caseinen ausgeführt. Das Kuhcasein wurde aus der Milch einfach durch Salzsäure gefällt, das Frauencasein nach der oben beschriebenen Pfeiffer-Schmidt'schen Methode mit der Modification, dass der Flüssigkeit auf 50 cbcm. Milch 1 cbcm. gesättigte Kochsalzlösung zugesetzt wurde. Beiderlei Niederschläge wurden durch Decantiren völlig zuckerfrei gewaschen; bei dem unter Salzzusatz gefällten Frauencasein führt das Decantiren schneller zum Ziele als das Centrifugiren. Der Niederschlag wurde mit Natronlauge in neutrale Lösung gebracht und durch nasse Filter filtrirt. Es kam nun darauf an, den Gehalt der Lösungen an Casein möglichst bald zu ermitteln, und ich glaubte, dass sich dieser Zweck noch am besten durch Feststellen des Stickstoffs erreichen liesse. Demgemäss wurde eine abgemessene Menge von jeder der Lösungen in einem Trockengläschen bei 100° verdunstet und mit mehreren Portionen des gewogenen Rückstandes Stickstoffbestimmungen nach Dumas ausgeführt. Auf 15,75 gr. Stickstoff wurde 100 gr. Casein gerechnet.

Bei den Verdauungsversuchen selbst wurden alle Bedingungen gleich gehalten (Volumen und Caseingehalt der Lösung, Gehalt an freier Säure, Temperatur, Dauer des Versuchs, Art und Menge des Pepsins). Es ist nicht schwer, die Versuchsbedingungen unter sich gleich zu machen, bis auf den Gehalt der Flüssigkeiten an freier Säure. Gerade hierauf kommt aber sehr viel an, weil die Menge des Peptons abhängig ist von der der freien Säure. Die Schwierigkeiten liegen darin, dass sich, nach Mittheilung des Herrn Professor Huppert, auch die an das Casein gebundene Menge Säure bei der Ver-

dauung wie freie Säure verhält, und dass sich diese Säuremenge nur unsicher bestimmen liess. Zum Fällen des Caseins aus seiner neutralen Lösung braucht man gerade so viel Salzsäure, als zum Lösen des entstandenen Niederschlags. Es ist also die Hälfte der vom Beginn der Fällung bis zur Lösung verbrauchten Salzsäure als freie Säure zu rechnen; werden diese beiden Grenzpunkte nicht scharf genug bestimmt, so macht sich der Fehler bei der Ausbeute an Pepton bemerklich. Im Uebrigen wurden die Versuche, die Isolirung des Peptons und seine Bestimmung, so ausgeführt wie E. Schütz [1]) in der Beschreibung seiner Methode der Pepsinbestimmung angegeben hat.

In zwei solchen, mit verschiedenem Material unternommenen Versuchen wurde für das Pepton beobachtet bei dem Casein der

	Frau:	Kuh:
$2\alpha_D$ =	—60,5′	—66,9′
	—38,0′	—31,8′
Summe:	—98,5′	—98,7′.

Die Differenzen zwischen den einzelnen Bestimmungen des Peptons aus dem Frauen- und Kuhcasein sind zwar bedeutender als zwischen zwei je ein Paar bildenden Einzelversuchen, aber sie sind in entgegengesetztem Sinne ausgefallen und gleichen sich aus. Dass die Versuche keine grössere Uebereinstimmung zeigen, lässt sich sehr wohl aus der Unsicherheit der Säuredosirung erklären.

Ein ganz bestimmtes Urtheil über diese Angelegenheit wird sich freilich erst aus einer grösseren Anzahl ähnlicher Versuche gewinnen lassen. Dass es mir meine Zeit nicht gestattet hat, sie selbst anzustellen, bedaure ich um so mehr, als das Studium der Zersetzungsprodukte eines Eiweisskörpers mindestens ebenso werthvolles Material zur Beurtheilung seiner Natur liefert, als die Kenntniss seiner Reaktionen und seiner Zusammensetzung. Trotz der geringen Zahl der Versuche glaube ich es jedoch als sehr wahrscheinlich betrachten zu

---

[1]) E. Schütz, diese Zeitschrift, Bd. 9, S 576.

dürfen, dass die beiden Caseine bei der Pepsinverdauung dieselben Peptone in gleichen Mengen liefern.

Aus der Gesammtheit der gewonnenen Resultate lässt sich wohl ohne Zweifel folgern, dass der als Casein bezeichnete Eiweisskörper der Frauenmilch nicht blos wirklich ein Casein ist, sondern dass auch die beiden Caseine einander mindestens so nahe stehen, wie Eiweisssubstanzen derselben Gattung, z. B. die Albumine.

B. Andere Eiweisskörper. Verdaulichkeit der Milch.

Wenn sich nun das verschiedene Verhalten der beiden Milcharten schwerlich auf eine wesentliche Verschiedenheit der beiden Caseine zurückführen lässt, so könnte es u. A. daran liegen, dass die Frauenmilch noch ganz andere Substanzen enthält als die Kuhmilch, oder die gleichen, jedoch in anderen Verhältnissen.

Dass das Pepton nicht zu diesen Körpern gehört, habe ich oben gezeigt. Dagegen hat J. Schmidt[1]) angegeben, dass die Frauen- und die Kuhmilch Hemialbumose, beide in ungleicher Menge, enthalten. Das Verfahren, dessen sich Schmidt zur Isolirung der Hemialbumose bediente, besteht im Wesentlichen darin, dass er die Milch mit Alkohol fällt, den Niederschlag mit Wasser auslaugt und den Auszug durch Kochen von einem Rest Albumin und Casein befreit. Auch ich habe nach diesem Eiweisskörper in der Milch gesucht und sie dazu mit Essigsäure und Kochsalz gefällt. Dabei bleiben in der Wärme allerdings kleine Mengen Eiweiss in Lösung, von denen es jedoch fraglich blieb, woraus sie bestehen. Ich bin auf die Frage nicht näher eingegangen, weil die Menge der Substanz eine sehr geringe war und beide Milcharten sie in ungefähr gleicher Menge lieferten. Der Gegenstand hatte deshalb für die mich beschäftigende Frage kein sonderliches Interesse.

Für Forschungen in der angedeuteten Richtung schien es mir dagegen von Wichtigkeit, sich im Allgemeinen darüber zu unterrichten, ob die Frauenmilch andere Eiweisskörper

---

[1]) J. Schmidt, a. a. O.

enthalte als die Kuhmilch, und versuchte ich hierüber durch vergleichende quantitative Verdauungsversuche der beiden Milcharten Aufschluss zu erhalten. Dazu war erst zu erörtern, wie sich das Milchalbumin im Vergleich zum Casein bei der Verdauung verhält. Ich bin dabei von der Voraussetzung ausgegangen, dass das Albumin der Milch Serumalbumin sei.

Das Albumin wurde aus Pferdeblutserum durch Ausfällen des Globulins mit Salzsäure und energische Dialyse dargestellt; es war noch nicht ganz globulinfrei. Der Gehalt der Lösung an Albumin wurde durch Bestimmung des Stickstoffs nach Dumas ermittelt, wobei der Stickstoffgehalt des Albumins mit 16% in Rechnung gesetzt wurde. Der Vergleich wurde angestellt mit Kuhcasein (15,75% N). In jedem Versuch wurden 0,94 gr. Eiweisssubstanz in 100 cbcm. der Verdauung unterworfen. Im Mittel aus je zwei Einzelbestimmungen ergab sich für das Albumin $2\alpha_D = -67{,}2'$, für das Casein $= -66{,}9'$. Enthielte die Milch der Frau sowie der Kuh neben dem Casein nur noch Serumalbumin, so hätte man also bei der Verdauung der ganzen Milch unter identischen Bedingungen gleiche Peptondrehungen bekommen müssen. Die Verhältnisse schienen also dem Unternehmen günstig.

Ich habe eine Reihe solcher vergleichender Verdauungsversuche angestellt. Der Eiweissgehalt der Milch wurde durch Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ermittelt und dazu sämmtliches Eiweiss als Casein (mit 15,75% Stickstoff) berechnet[1]). Dass das Serumalbumin etwas reicher an Stickstoff ist, macht für die Peptonbestimmung nichts aus. Wäre alles Eiweiss als Albumin (mit 16% Stickstoff) berechnet worden, so hätte sich statt 100 Casein 98,4 Albumin ergeben. Da nun nach Versuchen im hiesigen Laboratorium die Peptonmengen innerhalb der Bedingungen meiner Versuche direkt proportional dem zur Verdauung verwendeten Eiweiss sind,

---

1) Der Gehalt der Frauenmilch an Eiweisssubstanz ergab sich dabei im Mittel 1,02 gr. in 100 cbcm., mit Schwankungen zwischen 0,91 und 1,09; der der frischen Kuhmilch betrug 3,27—3,82 gr., im Mittel 3,61 gr.

so wären die Differenzen der Peptondrehungen noch innerhalb der Fehlergrenzen der Peptonbestimmung geblieben.

Die Verdauungsversuche wurden gerade so angestellt wie die der Caseine. Nur bei der Peptonbestimmung machte sich, des Milchzuckers wegen, eine Modification nöthig. Die Peptonlösungen drehten stark rechts. Nachdem ihre Drehungsgrösse ermittelt worden war, wurde ein abgemessenes Quantum durch Zusatz von Salzsäure und Phosphorwolframsäure vom Pepton befreit, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und vom Filtrat die Drehung wieder bestimmt. Diese wurde dann auf das ursprüngliche Volumen umgerechnet. Die Differenz zwischen beiden Drehungen entsprach der auf das Pepton entfallenden Drehung. Es ergab sich so für $2\alpha_D$ bei der

	Frauenmilch:	Kuhmilch:
	59,0′	53,3′
	73,1′	43,3′
	79,2′	53,8′
	64,7′	42,7′
	81,9′	40,7′
	94,8′	64,8′
	71,3′	61,8′
	111,6′	65,3′
Mittel	79,5′	53,2′

Die Frauenmilch liefert also unter denselben Verhältnissen ein stärker drehendes Verdauungsprodukt als die Kuhmilch. Der Unterschied kann hier nicht, wie bei der Verdauung der Caseine, auf die Unsicherheit in der Dosirung der freien Säure bezogen werden, denn er fällt immer in demselben Sinne aus. Der Grund des beobachteten Unterschieds dürfte vielmehr in der Verschiedenheit der Eiweisskörper gesucht werden. Man hat dazu aber nicht nöthig anzunehmen, dass die Frauenmilch Eiweiss anderer Art enthält als die Kuhmilch. Als ich diese Versuche machte, war mir die Untersuchung von Sebelien[1]), nach welcher das Lactoalbumin vom Serumalbumin verschieden ist, noch nicht bekannt. Es lässt sich

[1]) Sebelien, diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 453. 1885.

aber wohl denken, dass die Differenz in der Drehung der Verdauungsprodukte durch das Lactoalbumin veranlasst wird.

Aus diesen Zahlen aber auf eine leichtere Verdaulichkeit der Frauenmilch zu schliessen, wäre nur dann zulässig, wenn erwiesen wäre, dass alle Eiweisskörper der Milch Pepton von demselben Drehungscoefficienten lieferten. Enthielte die Frauenmilch gegenüber der Kuhmilch verhältnissmässig mehr von einem Eiweisskörper, der ein stark drehendes Pepton giebt, so liesse sich der Unterschied in der Drehung der Peptone beider Milcharten begreiflicher Weise auch ohne die Annahme einer leichteren Verdaulichkeit der Frauenmilch erklären.

Notiz, betreffend die Bildung von Sulfaten in keimenden Erbsen.

Von

E. Schulze.

(Der Redaktion zugegangen am 1. Juli 1885.)

Vor Kurzem hat G. Tammann in dieser Zeitschrift[1]) eine Abhandlung veröffentlicht, in welcher er den Nachweis führt, dass entgegen den von O. Kellner gemachten Angaben in keimenden Erbsen die Menge der Sulfate mit dem Fortschreiten der Keimung eine Zunahme erfährt — was nach meinen, von Tammann erwähnten, Untersuchungen auch für die Lupinenkeimlinge gilt.

Es sei mir gestattet, darauf aufmerksam zu machen, dass Kellner[2]) selbst auf Grund späterer Untersuchungen[3]) seine frühere Angabe widerrufen und gezeigt hat, dass nur die Unvollkommenheit der zur Bestimmung des Schwefelsäuregehalts der Keimlinge früher von ihm verwendeten Methode das nicht richtige Ergebniss verursachte. In Betreff der Einzelnheiten darf wohl auf Kellner's Abhandlung verwiesen werden.

---

[1]) Heft 4 und 5 des laufenden Bandes, S. 416.

[2]) Derselbe wirkt seit 1881 am landw. Institut zu Tokio in Japan.

[3]) Phytochemische Untersuchungen, herausgegeben von R. Sachsse (Leipzig 1880), Heft I, S. 58.

Physiologisch-chemische Literaturübersicht

Zusammengestellt

von

Dr. E. HERTER.

Cross, F. und Bevan, E. J. Gerbstoffähnlicher Körper aus Cellulose. Philosoph. magazine 1882, S. 325.

Cugini. Azione del chloroformio sui vegetali. Arch. it. de biolog., Vol. I.

Cuisinier. Ueber Malzsäure und Maltosaccharin. Sucrerie indigène Vol. 19. No. 12, 13. Monit. scientif., Vol (3) 12, p. 520.

Czapek. Beiträge zur Kenntniss der Oxalsäureausscheidung im Menschenharn. Prag. Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. II, S. 345.

Czerniewski. Der forensisch-chemische Nachweis der Quebracho- und Pereiroalcaloide in thierischen Flüssigkeiten und Geweben, mit Berücksichtigung ihrer Unterscheidung von den Strychnosalcaloiden. I.-D. Dorpat.

Dana. The digestive power of commercial pepsin in artificial digesters and in the stomach. Amer. jl. med. sci. No. 168, p. 337.

— The function of the intestinal juice. Med. News. Philadelphia. Vol. XLI, No. 3.

Degener. Vergleichende Bestimmungen des Zuckergehalts der Rübe. Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 1882, S. 786.

Déhérain und Meyer. Untersuchungen über die Entwickelung des Roggens. Annal. agronom., Bd. 8, S. 23.

Déhérain, P. P. et Nantier. Untersuchungen über die Entwickelung des Hafers. Annal. agronom., Bd. 8, S. 380.

Deichmüller. Ueber das Vorkommen der Diacetsäure-Spaltungsproducte im pathologischen und physiologischen Organismus. I.-D. Göttingen 1881.

Delassus. Etude sur l'hydropisie de l'amnios. Arch. gén. de méd., Vol. (VII) 9, p. 511.

Detmer. Ueber Amylumbildung in der Pfanzenzelle. Sitzungsber. d. Jena. Ges. f. Med. u. Naturw. 1881, S. 22.

— Ueber die Einwirkung des Stickoxydulgases auf Pfanzenzellen. Ebenda, S. 27.

— Ueber Pflanzenathmung. Sitzungsber. d. Jena. Ges. f. Med. u. Naturw. 1881, S. 40.

— Ueber Amylumbildung in der Pflanze. Bot. Zeit. 1881, No. 38.

Detmer. Ein Beitrag zur weiteren Begründung der Dissociationshypothese. Forsch. a. d. Geb. d. Agriculturphysik, Bd. **5**, S. 247.
— Ueber die Einwirkung verschiedener Gase, insbesondere des Stickoxydulgases auf Pflanzenzellen. Landw. Jahrb. 1882, S. 213.
— Ueber Fermente der Pflanzen und über die Wirkung einiger Gifte auf Pflanzenzellen. Sitzungsber. d. Jena. Ges. f. Med. u. Naturw. 1881.

Dietzell, E. Entbindung von freiem Stickstoff bei der Fäulniss. Centralbl. f. Agriculturchem. 1882, S. 417.

Dirks, V. Ueber das Vorkommen von Myronsäure. Landw. Versuchsstat., Bd. **28**, S. 179.

Dochmann. Ueber den Kumys. Petersburg. med. Wochenschr. 1881, No. 42.

Donde. Ueber Macallin. Giorn. farm. chim., Vol. **30**, p. 485.

Dott, D. B. Ueber Umwandlung des Morphins in Codeïn. Pharm. journ. and transact. 1882, p. 1009.

Dragendorff, O. Ueber ein Glycosid in Memexylon tinctorium. Pharm. Zeitschr. f. Russland 1882, S. 232.

Dragendorff. Untersuchung des Bieres auf fremde Bitterstoffe. Schweiz. Wochenschr. f. Pharm., Bd. **XV**, S. 291.

Dubelir. Ueber den Einfluss des fortdauernden Gebrauchs von Natriumcarbonat auf die Zusammensetzung des Blutes. Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. W., Bd. **83**, III, S. 261.

Dubrisay. Die Aufbewahrung der Nahrungsmittel mittelst Salicylsäure. Ann. d'hyg. publ., Vol. **V**, p. 424.

Dubrunfaut. Dextrinase und Maltase im Malz. Zeitschr. f. Spiritusindustrie, Bd. **5**, S. 375.

Düsterhoff, Adolph. Ueber den Einfluss von Eisenpräparaten auf die Magenverdauung. I.-D. Berlin.

Dufour. Sur la composition du tissu osseux. Thèse. Lyon.

Dugast. Zusammensetzung verschiedener Futterkohlvarietäten. Annal. agronom., Bd. **8**, S. 226.

Dunnington, F. P. Aschenanalysen von Unkräutern. Journ. of the americ. chem. Soc., Vol. **II**, p. 24.

Dyer, B. Milchanalysen. Analyst, Bd. **VI**, S. 59.

Ebstein, W. Die Natur und Behandlung der Gicht. Wiesbaden.

Ehell, P. Wasserstoffsuperoxyd als Desinfectionsmittel. Arch. d. Pharm., Bd. **20**, S. 208.

Eijkman, J. F. Sur le principe toxique de l'Andromeda Japonica Thunb. N. Tijdschrift voor pharmacie in Nederland, Oct. 1882; receuil des trav. chim. d. Pays-Bas, Vol. **1**, p. 224.

Ekin. Ueber Borsäure als Conservirungsmittel der Milch. Industrie-Blätter, Bd **19**, S. 373.

Elfving, F. Ueber die Wasserleitung im Holz. Forschungen auf d. Geb. d. Agrikulturphysik, Bd. **6**, S. 138.

Eliassow. Beiträge zur Lehre von dem Schicksal des Morphins im lebenden Organismus. I.-D. Königsberg.

Ellenberger. Ueber die Folgen der Unterdrückung der Hautausdünstung bei Haussäugethieren. D. Zeitschr. f. Thiermed., Bd. **8**, S. 152.

Ellenberger und Hofmeister. Ueber die Verdauungsstätte und die Verdauung des Pferdes. Arch. f. wiss. u. prakt. Thierheilk., Bd. 8, S. 395.

Ellenberger und Hofmeister, V. Die Verbreitung des saccharificirenden Fermentes im Pferdekörper. Arch. f. wiss. u. prakt. Thierheilk. 1882, S. 91.

Elliot. Ueber Nitrosaccharose. Journ. amer. chem. soc. 1882, p. 147.

Engelmann. Zur Biologie der Schizomyceten. Onderz. physiol. Laborat. Utrecht. Bd. VII.

— Ueber Assimilation von Haematococcus. Onderz. physiol. Lab. Utrecht. Dl. III, S. 220.

— Farbe und Assimilation. Ibid., S. 229.

— Over de Zuurstofafscheiding door haemotococcus. Proc.-verb. Kon. Akad. v. Wetensch. Maart 1882.

Ercolani. Dell' addatamento della specie all' ambiente. Accad. delle Sci. di Bologna 1882, p. 43.

Erlenmeyer, M. Zwei- oder dreimaliges Melken. Milchzeitung 1882, S. 362.

Estcourt, C. Analysen von Fleischextract aus Rind- und Pferdefleisch. Repert d. analyt. Chemie 1882, S. 12.

Evetzky, E. Ueber die Zunahme der Kinder im ersten Jahr und über die Ernährungsverhältnisse des frühesten Kindesalters. New-York. med. Journ., Bd. XXXIII, S. 172.

Eykmann. Alkaloide aus Macleya cordata. Pharm. journ. and transact. (4) No. 614, p. 803.

— Ueber Asebotoxin. Americ. pharm. journ. 1882, p. 365.

Eyssantier, C. Des sels d'hématine. Etude de chimie biologique avec applications à la médecine légale. Thèse. Bordeaux. Gaz. méd. 1882, p. 539.

Falkson, R. Ueber Carbolurin und Carbolintoxication bei der Lister'schen Wundbehandlung. Arch. f. klin. Chir., Bd. 26, S. 204.

Fano. Contribuzione allo studio della coagulazione del sangue. Lo Sperimentale 1882, p. 256, 370.

Farsky, F. Zusammensetzung von Hopfen. Centralbl. f. Agriculturchem. 1882, S. 427.

Fassbender. Ueber die Ruffle'sche Stickstoffbestimmungsmethode. Repert. f. analyt Chemie, Bd. 2, S. 225.

Faveret. Contribution à l'étude des albuminuries expérimentales dyscrasiques. Rev. de méd. 1882, p. 958.

Fedeli, G. Der Eucalyptus globulus als Desinfectionsmittel. Raccoglitore med. Forli. Vol. XV, p. 560.

Feemster. Ueber den Caffeïngehalt der Guarana. Americ. pharm. journ. 1882, p. 363.

Fereiot. De l'huile de croton tiglium envisagée principalement au point de vue physiologique et thérapeutique. Thèse. Montpellier.

Fischer, Ferd. Die menschlichen Abfallstoffe, ihre practische Beseitigung und landwirthschaftliche Verwerthung. D. Vierteljahrsschr f. öff. Gesundheitspflege 1882.

Fleck, H. Die Chemie im Dienste der öffentlichen Gesundheitspflege. 1882.

Fleischmann, W. Zusammensetzung der Milchasche. Ber. üb. d. Thätigk. d. milchwirthsch. Versuchsstat. i. Raden 1881, S. 36.
— Milcherträge und Fettgehalt der Milch. Ibid., S. 12.
— Untersuchung von Schafmilch. Ibid., S. 35.
— Einwirkung von Pepsin auf die Gerinnung der Milch und Reifung des Käses. Ber. üb. d. Thätigk. d. milchw. Versuchsstat. Raden 1881, S. 38.

Fleischmann, W. und Morgen, A. Ueber die Beziehungen, welche zwischen dem specifischen Gewichte der Milch und dem procentischen Gehalt an Fett und Trockensubstanz bestehen. Journ. f. Landw. 1882, S. 293.

Fodor, Josef v. Hygienische Untersuchungen über Luft, Boden und Wasser. Braunschweig.

Förster. Furfurol im Bier. Allg. Brauer- u. Hopfen-Zeitung 1882, S. 214.

Fokker. Einige Experimente mit Papain und Papajotin. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk., Feestnommer 1882, S. 83. (Holl.)

Förster. Beitrag zur quantitativen Bestimmung der grauen und weissen Substanz im menschlichen Gehirn. Beitr. zur Biologie. Stuttgart.

Francke, G. Bestimmung der Stärke. Chemiker-Zeitung 1882, S. 961.

Freitag. Versuche über arterielle Transfusion bei Kohlenoxyd-Vergiftung. I.-D. Königsberg.

Freitag, M. Die schädlichen Bestandtheile des Hüttenrauchs und ihre Beseitigung. Landw. Jahrb., Bd. 11, S. 315.

Frisby, F. Zusammensetzung von Fucus vesiculosus. Arch. d. Pharm. 1882, S. 127.

Fritsch. Ueber farbige körnige Stoffe des Zellinhalts. I.-D. Königsberg.

Fröhner, E. Ueber den Gehalt des Hundeharnes an Gallenfarbstoffen. Deutsche Zeitschr. f. Thiermed., Bd. 8, S. 60.

Fubini e Ottolenghi. Influenza della caffeina e dell' infuso di caffé sulla quantita giornaliera di urea emessa dall' uomo colle urine. Giorn. R. accad. di med. di Torino. Vol. XLV, p. 570.

Fuchs, D. Nachweis von Brunnenwasser in der gefälschten Milch. Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege, Bd. XIII, S. 253.

Fürbringer, P. Ueber Herkunft und Bedeutung der sogen. Spermakrystalle. Sitzungsber. d. Jena. Ges. f. Med. u. Naturw. 1881, S. 13.
— Ueber Prostatasecret und Prostatorrhoe. L. c., S. 16.

Gäbel, D. Ueber das Margarimeter. Milchzeitung 1882, S. 436.

Gaglio. Ricerche sperimentali da servire alla teoria dell' urogenesi epatica. Sperimentale 1882, p. 374.

Gaglio e Mattei. Sulla non esistenza di una proprieta tossica della saliva umana. Arch. per le sci. med., Vol. 6, p. 52.

Gamgee. On the growth of our knowledge of the function of secretion. Lancet 1882, Vol. II, p. 299, 339.
— Lectures on digestion. Ibid., Vol. I, p. 856, 979, 1023. Vol. II, p. 82, 94.

Gautier et Etard. Alcaloides des matières putrides. Arch. gén. de méd, Vol. (7) **9**, p. 490.

Gayon. Wirkung von Bernsteinsäure auf Rohrzucker. Journ. des fabric. de sucre 1882, No. 38.

Gerard. Chloroform als Antisepticum. Am. journ. of pharm., Vol. **LIV**, p. 141.

Gerber, Nicolaus. Chemisch-physikalische Analyse der verschiedenen Milcharten und Kindermehle. mit besonderer Berücksichtigung der Hygiene und Marktpolizei. Jahrb. f. Kinderheilkunde, Bd. **XVI**, S. 490.

Gerrard. Ueber Darstellung des Atropins. Pharm. journ. and transact. (4) No. 591, p. 346.

Gessard. De la pyocyanine et de son microbe. Thèse. Paris.

Giacosa. Sulla composizione chimica dell' uovo e dei suoi slivuppi presso la rana commune. Arch. per le sci. med., Vol. **6**, p. 328.

— Sui componenti albuminoidei del cristallino. R. accad. di med. Torino 1882.

— Ricerche chimiche sul vitreo del occhio umano. Arch. per le sci. med., Vol. **6**, p. 29.

Giglioli, J. Wirkung von Gasen und Flüssigkeiten auf die Lebensfähigkeit von Pflanzensamen. Nature, Bd. **XXV**, S. 328.

Giliberti. Delle variazioni nella quantità d'acido carbonico eliminato in una serie di successive espirazione profonde, e dell' influenza della chinina sull' eliminazione dell' acido carbonico. Arch. per le sci. med., Vol. **VI**, p. 113.

Giron. De l'eucalyptol, considéré principalement comme antiseptique. Thèse. Montpellier.

Godlewski, E. Ueber Pflanzenathmung. Forsch. a. d. Geb. d. Agriculturphysik, Bd. **5**, S. 285, Bd. **6**, S. 140.

— Ein neuer Athmungsapparat. Ibid., Bd. **6**, S. 142.

Goluzzi. Sull' azione destrutrice delle cellule epatiche sui globuli rossi del sangue. Mem d. accad. d. sci. di Bologna 1882.

Gosselin und Bergeron. Wintergrünöl als Antisepticum. Arch. gén. de méd. 1881, p. 16.

Grebe, L. Experimentelle Beiträge zur Wirkung des Alkohols. Arch. f. wiss. u prakt. Thierheilk., Bd. **8**, S. 71.

Gréhant. A quelle dose l'alcool doit-il se trouver dans le sang pour produire la mort? Gaz. méd. de Paris 1882, p. 95.

Griessmayer. Die Verfälschung der wichtigsten Nahrungs- und Genussmittel. Augsburg.

Grüning, W. Beiträge zur Chemie der Nymphäaceen. Arch. d. Pharm. 1882, S. 589, 736.

Guareschi e Mosso. Le ptomaïne. Ricerche di chimica, fisiologia e medicina legale. R. accad. d. Lincei 1882.

Gué. Sur les éthers nitriques de la lactose. Journ. soc. chim. russ., Vol. **XIV**, fasc. 6.

Gürtler. Ueber Veränderungen im Stoffwechsel unter dem Einfluss der Hypnose und bei der Paralysis agitans. I.-D. Breslau.

Hagemann, W. Beitrag zur Frage der Butterconservirung. Landw. Versuchsstat., Bd. **28**, S. 201.

Haller, Carl. Das Ozon und seine hygienische Bedeutung. Wien.

Hammaister. Ueber Dehydrocholalsäure, ein neues Oxydationsproduct der Cholalsäure. Nov. act. reg. soc. Upsala.

Hansen, A. Geschichte der Assimilation und Chlorophyllfunction. Arbeit d. botan. Inst. Würzburg, Bd. 2, S. 537.

Hansen, E. Ch. Recherches sur les ferments. Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, Kopenhagen. Vol. I, p. 49, 147.

— Sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature. Ibid., 3 livr., p. 150.

de la Harpe. Concentrirte Milch ohne Zucker. Rev. méd. de la Suisse Rom., Vol. 1, p. 712.

Hart. Note on the formation of fibrin. Quart. jl. mic. sci. 1882, p. 255.

Hartig, R. Ueber die Vertheilung der organischen Substanz, des Wassers und Luftraumes in den Bäumen. Unters. a. d. forst-bot. Inst. München, H. 2.

— Ueber das Dickenwachsthum der Bäume. Flora 1882, No. 8.

Hartog. Respiration of the Crustacea. Quart. journ. micr. sci. N. S., Vol. LXXX, p. 485.

Hayem. Leçons sur les modifications du sang sous l'influence des agents médicamenteux etc. Paris.

Hasfelt. Het Spinnenvergift. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. Feestnommer 1882.

Heckel, Edouard. Nouvelles recherches sur la résine de Tacahamaque et son huile, fournies par le Calophyllum inophyllum L. Rec. des actes du com. méd. des Bouches du Rhône. T. 21, p. 167.

Heckel und Schlagdenhauffen. Ueber Colanüsse. Repert. de pharm., Vol. 10, p. 163.

Hedenius, P. Bidrag til frågan om diabetes insipidus är en hjernaffektion. Upsala läkare foren. förhandl. Sjüttonde bandet, H. 4, p. 5.

Heeren, J. Pioscop zur Milchprüfung. Polyt. Notizblatt, Bd. XXXVI, S. 317.

Hehner, O. Specifisches Gewicht des Milchfettes. Analyst, Bd. 7, S. 129.

— Zur Bestimmung der Phosphorsäure mit Molybdänsäure. The analyst, Vol. 4, p. 29.

Heinzelmann, G. Einfluss der Salicylsäure auf die Gährkraft der Hefe. Zeitschr. f. Spiritusindustrie, Bd. 5, S. 458.

Hensen, V. Ueber die Fruchtbarkeit des Erdbodens in ihrer Abhängigkeit von den Leistungen der in der Erdrinde lebenden Würmer. Landw. Jahrb., Bd. XI, S. 661.

Herlandt, A. Ueber schwarze Niesswurz. Pharm Zeitg. 1882, No. 14.

Herroun, E. F. Synthèse de l'urée. Monit. scientif (3) Vol. 11, p 1056.

Herzfeld, A. Ueber Maltose. N. Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 1882, S. 172, 182.

Heydenreich, L. und Beilstein, F. Ueber die Werthbestimmung von Desinfectionsmitteln. Vierteljahrschr. f. öff. Gesundheitspflege, Bd. XIII, S. 257.

Heyer, C. Zur Kenntniss der Oxydation des Rohrzuckers. Arch. d. Pharm., Bd. 17, S. 336, 430.

Hoffmann, H. Das Casein aus erhitzter Milch. I.-D Berlin 1881.

Hofmann, Franz. Die Bedeutung von Fleischnahrung und Fleischconserven mit Bezug auf Preisverhältnisse. D. med. Wochenschrift, Bd. VII, S. 277.

Hofmann. Ueber polizeiliche Controlle der Milch. Wider die Nahrungsfälscher, Bd. IV, S. 179.

Hofmeier. Ueber die Gelbsucht der Neugeborenen. Zeitschr. f. Geburtshilfe etc., Bd. 8, H. 2.

Hofmeister, V. Ueber die Harnsecretion bei überfirnissten Pferden. D. Zeitschr. f. Thiermed., Bd. 8, S. 171.

Hoppe-Seyler, F. Ueber die Einwirkung des Sauerstoffs auf Gährungen. Festschrift. Strassburg.

Hornberger, R. und v. Raumer, E. Chemische Untersuchung über das Wachsthum der Maispflanze. Landw. Jahrb. 1882, S. 359.

Horvath. Ueber die Respiration der Winterschläfer. Sitzungsber. der phys.-med. Ges. Würzburg, Bd. XV, S. 177.

— Einfluss verschiedener Temperaturen auf die Winterschläfer. Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg, Bd. 15, S. 187.

Houzé de l'Aulnoit, Alfred. Das Abrahmen der Milch und dessen Gefahren in Bezug auf die künstliche Ernährung der Kinder. Ann. d'hyg., Vol. VI, p. 78.

Hubbard. Arsenic: its physiological action, elimination by the kidneys, detection and estimation. Contrib. chem. lab. univ. of Michigan, Vol. I, Pt. 1.

Jacobi. Ueber Conservirung der Milch. D. Arch. f. öff. Gesundheitspflege, Bd. 14, S. 656.

v. Jaksch. Ueber Glycosurie bei Kohlenoxydvergiftung. Prag. med. Wochenschr. 1882, S. 161.

Jackson, L. C. und Menke, A. E. Ueber Curcumin. Americ. chem. journ., Vol. 4, p. 77.

Jaudous, Alois. Ueber chemische Bestandtheile der Epheufrucht. Pharm. Post, Bd. XV, S. 293.

Janke, L. Hygienisch-chemische Untersuchungen. Veröffentlich. d. kaiserl. Gesundheitsamtes, Bd. V, S. 239.

Jenkins, E. H. Analysen von Kuhmilch. Ann. report. of the Connecticut argricultur. exprim. stat. 1882.

Jörgensen, A. Ueber die Verfälschung der Milch und die Nachweisung derselben mittels des Refractometers. Landw. Jahrb. 1882, S. 701.

Johannson, E. Ueber den Aepfelsäuregehalt der Vogelbeeren. Pharm. Zeitschr. f. Russland, Bd. 21, S. 7.

— Untersuchung der Weidengallen. Pharm. Zeitschr. f. Russland 1882, S. 455.

Johnson. Another test for albumin. Lancet, Vol. II, S. 737.

Johnson, Ch. Ueber Rubus villosus. Americ. journ. of pharm., Vol. 53, S. 595.

Johnson, S. W. und Jenkins, E. H. Zur Stickstoffbestimmung nach der volumetrischen Methode. Americ. chem. journ., Vol. 2, p. 27.

Just, L. Ueber die Möglichkeit, die unter gewöhnlichen Verhältnissen durch grüne beleuchtete Pflanzen verarbeitete Kohlensäure durch Kohlenoxyd zu ersetzen. Forsch. a. d. Geb d. Agriculturphysik, Bd. 5, S. 60.

Kayser, R. Untersuchung eines Aepfelmostes und des daraus erhaltenen Weines. Repert. d. analyt. Chem. 1882, S. 354.

— Untersuchung mehrerer Moste verschiedener Abstammung, aus denselben dargestellter Weine und Kunstweine. Repert. d. analyt. Chem. 1882, S. 52.

Kellner, O. Ueber die Verluste der Futtermittel bei ihrer Aufbewahrung in Miethen. Journ. f. Landw., Bd. 31, H. 3.

Kennedy. Birkenöl aus Betula lenta L. identisch mit Wintergrünöl. Amer. journ. pharm. 1882, p. 49.

Kennepohl und Schulze, B. Beitrag zur Kenntniss der Zeitdauer, innerhalb welcher nach Futterwechsel im Kothe der Wiederkäuer constante Stickstoffausscheidung eintritt. Journ. f. Landwirthsch. 1882, S. 541.

Kern, E. Ueber Kephor. Bot. Zeit. 1882.

Kieseritzki. Die Gerinnung des Faserstoffs, Alkalialbuminates und Acidalbumins verglichen mit der Gerinnung der Kieselsäure. I.-D. Dorpat.

Kietz. Beiträge zur Lehre von der Verdauung im Magen. I.-D. Erlangen 1881.

Kingzett, F. Terpentinöl als Antisepticum. Arch. d. Pharm., Bd. 20, S. 944.

Kjehldahl. Einfluss der Salicylsäure auf Diastase. Meddelelser fra Karlsberg Laboratoriet Kopenhagen 1879.

Klikowitsch und Lewaschow. Einfluss alkalischer Mittel auf die Zusammensetzung der Galle. Tescheniediel. klin. Gaz. 1882, No. 19—22.

König, J. Reinigung von fauligem Abflusswasser aller Art durch Zuführung von Luft. Landw. Jahrb. 1882, S, 841.

König, J. und Krauch, C. Veränderung und Wirkung des Rieselwassers bei der Berieselung. Landw. Jahrb. 1882, S. 158.

Körner. Ueber Broduntersuchungen. D. mil.-ärztl. Zeitschr. Bd. X, S. 4.

Körner, G. Ueber Caffeesäure aus Cinchona cuprea. Annali di chimica 1882, p. 492.

Köster, H. Nagra bidrag till kännedomen om kaseinet och dess koagulation med löpe. Upsala läkare foren. Förhandl., Vol. XVI, p. 514.

Kormann, Ernst. Weitere Erfahrungen über die Ernährung von Kindern nach dem Säuglingsalter mit J. P. Liebe's löslicher Leguminose. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd 16, S. 457.

Kossel, A. Untersuchungen über die Nucleine und ihre Spaltungsproducte. Strassburg.

Kramer, F. Ueber den Gerbsäuregehalt einer Reihe von Droguen. Americ. journ. of pharm. (4) Vol. 54, p. 388.

Krätzschmar, L. Das Reagens auf Leben. Botan. Zeit. 1882. No. 40.

Krauch, C. Ueber die chemische Zusammensetzung der Ammenmilch. Arch. d. Pharm., Bd. 20, S. 101; Chem. Centralbl. 1882, S. 247.
— Ueber Otto's Methode zur Bestimmung des Fuselöls im Branntwein. Wider die Nahrungsfälscher, Bd. IV, S. 184.
— Peptonbildende Fermente in den Pflanzen. Landw. Versuchsstat., Bd. 27, S. 383.
— Ueber Pflanzenvergiftungen. Journ. f. Landwirthsch., Bd. 30, S. 271.
— Ueber die Giftigkeit des Rhodanammoniums für unsere Culturpflanzen. Journ. f. Landwirthsch. 1882, S. 273.
— Ueber die Giftigkeit des Zinks für die Pflanzenwurzeln. Ibid., S. 282.
— Ueber den Einfluss kalisalzhaltigen Wassers auf Vegetation und Boden. Ibid., S. 289.

Kraus, G. Ueber den Zuckergehalt und die Acidität des Zellsaftes bei den Krümmungen der Stengel. Sitzungsber. d. naturf. Ges. Halle 1880.
— Ueber die Acidität des Zellsaftes der Blätter bei Tag und Nacht. Ibid., 1881.

Krukenberg. Bemerkungen zu einigen neueren Aufsätzen vergleichend-physiologischen Inhalts. Vergl.-physiol. Untersuchungen, 2. Reihe, III. Abth., S. 116.
— Zur Kenntniss der organischen Bestandtheile der thierischen Gerüstsubstanzen II. Ibid., II. Abth., S. 21.
— Die Pigmente, ihre Eigenschaften, ihre Genese und ihre Metamorphosen bei den wirbellosen Thieren I. Ibid., III. Abth., S. 1
— Die Pigmente der Fischhaut. Ibid., S. 139.
— Die Farbstoffe der Federn. Ibid., S. 128.
— Zur vergleichenden Physiologie der Lymphe, der Hydro- und Hämolymphe. Vergl.-physiol. Studien, 2. R., 2. Abth., S. 87.
— Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der Verdauung. Heidelberg.
— Zur Verdauung bei den Fischen. Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg, 2. Reihe, II. Abth., S. 385.
— Verdauungsvorgänge bei den Cephalopoden, Gastropoden und Lamellibranchiaten. Ibid., S. 402.
— Notizen zur Literatur über die vergleichende Physiologie der Nutritionsprocesse. Ibid., S. 418.

Kühne. Bemerkungen zu Herrn Hoppe-Seyler's Darstellung der Optochemie. Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg, Bd. 2, S. 488.
— Beiträge zur Optochemie. Ibid., Bd. 4, S. 169.

Kühne und Lea. Beobachtungen über die Absonderung des Pankreas. Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg, Bd. II, H. 4, S. 448.

Kutscheroff. Sur l'oxydation de l'acide cholalique. Journ. soc. chim. russ., T. 13, fasc. 9.

Kuznetsow. Untersuchungen über den Wärmeverlust von der Haut bei gesunden und kranken Menschen. Medizinsk. wiestnik. 1882, No. 38.

Laborde. Salicylsäure als gährung- und fäulnisshinderndes Mittel. Tribune méd., Vol. XIV, p. 292.

Lacour, E. Zusammensetzung von Lichen esculentus. Arch. d. Pharm. 1882, S. 125.

Laker. Studien über die Blutscheibchen und den angeblichen Zerfall der weissen Blutkörperchen bei der Blutgerinnung. Sitzungsber. d. Wien. Ak. d. W., Bd. **86**, III, S. 173.

Lange, L. Zur Aetiologie der Haematurie bei Pferden. Deutsche Zeitschr. f. Thiermed., Bd. **8**, S. 71.

Langley. On the estimation of ferment in gland-cells by means of osmic acid. Proc. Camb. phil. soc., Vol. **IV**, P. 2, p. 74.

Lanquer. Ueber die chemische Zusammensetzung des Menschenfettes in verschiedenen Lebensaltern. Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. W., Bd. **81**, III.

Latham. Further observations on the transformation of alcohol and on the formation of alcohol and urea in the animal body. Proc. Camb. phil. soc., Vol. **IV**, 1, p. 198.

— On the composition of albumin and the changes which leucine and similar bodies undergo in the animal system. Proc. Camb. phil soc., Vol. **IV**, Pt. 4, 169.

Latschinoff. Sur l'acide isocholalique. Journ. de la soc. chim. russ., T. **XIV**, fasc. 4.

Law, J. Die Milderung der Bösartigkeit von Krankheitskeimen durch Sauerstoff. Med. rec. New-York, Vol. **XIX**, p. 673.

Lawes, Gilbert und Warington, R. Menge und Zusammensetzung der Regen- und Drainwasser von Rothamsted. Journ. of the royal agric. soc. of England, Vol. **17**, p. 241, 311; Vol. **18**, p. 1.

Legler, L. Verfahren der Theobrominbestimungen im Cacao. X. u. XI. Jahresber. d. k. Centralst. f. öff. Gesundheitspflege, Dresden.

Lefort, J. und Thibault, P. Ueber den Einfluss des arabischen Gummis bei gewissen chemischen Reactionen. Journ. de pharm. et de chim. (5) Vol. **6**, p. 169.

Leppig, O. Ueber Tanacetum vulgare. Pharm. Zeitschr. f. Russland, Bd. **21**, S. 141, 169, 193.

v. Liebenberg, A. Ueber die Rolle des Kalks bei der Keimung von Samen. Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien I. Bd. **84**.

Lilly, J. Ueber Aralia spinosa. Pharm. journ. and transact. 1882, p. 305.

v. Lippmann. Ueber das Vorkommen von α-Oxyglutarsäure in Melassen. Deutsche Zuckerindustrie 1882, No. 18.

v. Lippmann, E. O. Die Zuckerarten und ihre Derivate. Braunschweig.

Lœwe, J. Alkoholbestimmung im Wein. Dingler's polyt. Journ., Bd. **245**, S. 219.

Lubavin. Aperçu des corps appartenant au groupe de l'indigo. Journ. de la soc. chim. russ., Vol. **14**, p. 1.

Luciani e Buffalini. Sull decorso della inanizione. Arch. per le sci. med., Vol. **5**, p. 28.

Ludwig, E. Ueber Adipocire. Wien. med. Bl., Bd. **IV**, S. 1404.

Lukjanow. Beziehung des septischen Giftes zur Schweisssecretion. Tescheniediel. klin. Gaz. 1882, No. 32—35. (Russ.)

Mach, E. und Portele, K. Extractbestimmung im Wein. Weinlaube, Bd. **14**, S. 292, 303.

Maisel. Ueber Albuminurie nach Injection von Gummilösungen. I.-D. Jena.

Maissurianz. Experimentelle Studien über die quantitativen Veränderungen der rothen Blutkörperchen im Fieber. I.-D. Dorpat.

Mandelin, K. Ueber Vorkommen von Salicylsäure. Pharm. journ. and transact. 1882, S. 627.

Mayer, A. Die Lehre von den chemischen Fermenten oder Enzymologie. Heidelberg.

— Ueber Conservirung der Milch. Michzeitung 1882, S. 31, 321.

Mayer, Adolf. Weitere Beiträge zur Kenntniss der Wirkung des Invertin. Zeitschr. f. Spiritusindustrie, Bd. **5**, S. 20.

Mallet. Preliminary report of the results of an investigation made by direction of the national board of health as to the chemical methods in use for the determination of organic matter in potable water. Nat. bd of health. bull. Suppl. No. 19.

Malosse, Theodor. Die Früchte von Ammi Visnaga. Amer. journ. of pharm., Vol. **53**, p. 639.

Masing. Ein Beitrag zur Kenntniss der antiseptischen und physiologischen Eigenschaften des Brenzcatechins. I.-D. Dorpat.

Di Mattei. Sulla pretesa azione tossica delle diluzioni acquose degli organi animali freschi. Arch. p. l. sci. med., Vol. **6**, p. 245.

Meigs, Arthur. Milk analysis. Philadelphia med. Times July 1882.

Moleschott e Fubini. Sur l'influence de la lumière mixte et chromatique dans l'exhalation de l'acide carbonique par l'organisme animal. Gaz. méd. 1882, p. 14.

Molliot. De l'intoxication chronique par l'oxyde de carbone. Thèse. Paris.

Monteverde. Ueber Verbreitung und Vertheilung des Salpeters in der Pflanze und über einige chemische Verwandlungen unter Einfluss des Zellsafts. Arb. d. Petersb. Naturf. Ges., Bd. **7**, Th. 2.

Mori, A. Ueber die ersten Producte der Pflanzenassimilation. Naturforscher 1882, No. 31.

Moritz, E. R. und Hartley, A. Die mineralischen Bestandtheile des Getreidekorns. Allg. Brauer- u. Hopfenzeit. 1882, No. 27.

Morley, W. Die Schwankungen des Sauerstoffgehalts der atmosphärischen Luft. Americ. journ. of science (3) Vol. **22**, p. 417, 429.

Morochowetz. Die photochemischen Processe des Sehacts. Diss. pro venia docendi. Moskau. (Russ.)

Mosso e Pellacani. Sulle funzione della vescica. Ann. dei lincei 1882.

Müller-Thurgau, H. Ueber Bedeutung und Thätigkeit des Rebenblatts. Ber. d. Weinbaucongresses zu Heilbronn 1881.

— Zur Kenntniss des Stoffwechsels in stärkehaltigen Pflanzenorganen. Forsch. a. d. Geb d. Agriculturphysik, Bd. **5**, S. 288; Bd. **6**, S. 151.

Mulder. Une réaction des combinaisons de l'acide cyanurique normal et du corps de M. Cloëz. Rec. des trav. chim. des Pays-Bas, Vol. **1**, p. 41.

— Sur l'acide cyanique normal et ses dérivés. Versl. en mededel. d. k. Akad. van Wetensch. (2) Vol. **16**, p. 223; Vol. **17**, p. 162.

Munkácsy, Paul. Ueber den Gasgehalt des Trinkwassers. Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege, Bd. **XIII**, S. 242.

Musculus, F. und Amthor, C. Extract- und Phosphatgehalt saurer (1879er) Weine. Repert. d. analyt. Chem. 1882, S. 142.

v. Nægeli, C. Untersuchungen über niedere Pilze. Aus dem pflanzenphysiol. Inst. München. München und Leipzig.

Nega. Beitrag zur Frage der Elimination des Mercurs mit besonderer Berücksichtigung des Glycocoll-Quecksilbers. Strassburg.

Nessler, J. Ueber Darstellung von Labessenz aus frischem Labmagen. Forsch. a. d. Geb. d. Viehhalt., Bd. **12**, S. 157.

— Ueber Zusammensetzung und gesundheitsschädliche Wirkung eines Kartoffelzuckers. Polyt. Notizblatt, Bd. **XXXVI**, S. 1.

Netschajew. Der inhibirende Einfluss von Atropin, Morphium, Chloralhydrat und der Erregung sensibler Nerven auf die Secretion des Magensaftes. I.-D. Petersb. (Russ.)

Norris. The physiology and pathology of the blood: comprising the origin, mode of developement, pathological and post mortem changes of its morphological elements in mammalian and oviparous vertebrates.

— On the invisible corpuscles of mammalian and oviparous blood and their relation to fibrin formation and coagulation. Lancet 1882, Vol. **II**, p. 429, 478.

Notter, J. L. Experimentelle Untersuchungen über Desinfectionsmittel. Dublin journ. of med. sc., Vol. **LXXI**, p. 508.

v. Ollech und Tollens. Ueber das Verhalten von Phosphaten zu Citronensäurelösungen. Journ. f. Landw. 1882, S. 519.

d'Oremus, A. Sur la composition du lait d'éléphant. Monit. scientif. (5) Vol. **12**, p. 68.

Ostapenko. Einfluss hoher Temperaturen auf die Zahl der rothen Blutkörperchen. Wratsch 1882, No. 8, 11, 12. (Russisch.)

Oudemans, A. C. Sur le pouvoir rotatoire spécifique de l'apocinchonine et de l'hydroapocinchonine sous l'influence des acides. Versl. en mededel. d. k. Akad. van Wetensch. Afd. Natuurk., Vol. **XVIII**, p. 1.

Pasteur. Sur l'atténuation de virus. Rev. scientif., Vol. **XXX**, No. 12.

Parsons, H. Untersuchung der Wurzel von Berberis aquifolium var. repens. Pharm. journ. and transact. 1882, p. 46.

Parsons, H. P. Ueber das Vorkommen der Aconitsäure. Amer. chem. journ., Vol. **4**, p. 39.

Paterno e Spira. Ricerche sulla genesi delle ptomaïne. Accad. dei Lincei 1882, p. 17.

Pauchon, A. Untersuchungen über die Rolle des Lichtes bei der Keimung. Ann. d. sc. nat. Sér. II. Bot. J., Vol. **X**.

Péradon. Contribution à l'étude physiologique et thérapeutique de la résorcine. Thèse. Paris.

Perkins, Plunt. Bestimmung der Salpetersäure im Trinkwasser. Analyst, Bd. **6**, S. 58, 202.

Pesci, Leone. Sur une nouvelle base dérivée de l'atropine. Monit. scientif. (3) Vol. **12**, p. 279.

Petrone. La presenza dei corpi amilacei nel sangue dell' uomo. Giorn. intern. Sci. med., Vol. **IV**, p. 337.

Pfeiffer, Th. Ueber künstliche und natürliche Verdauung stickstoffhaltiger Futterbestandtheile. Centralbl. f. Agriculturchem. 1882, S. 739.

Pietra Santa. New contribution to the study of gastric juice. Brit. med. jl., p. 1037.

Plugge, P. C. Sur l'Andromedotoxine. Pharm. Weekblad, Okt. 1882.

Pœnsgen. Die motorischen Verrichtungen des menschlichen Magens und ihre Störungen. Strassburg.

Power, J. On the excretion of nitrogen by the skin. Dublin journ. of med. sci. 1882, p. 369.

Preyer. Verlängerung der Embryonalzeit bei Wirbelthieren. Sitz.-Ber. d. Jena. Ges. f. Med. u. Naturw. 1881, S. 20.

Pressler, H. Beiträge zur Kenntniss des Theobromins. I.-D. Jena.

Primavera. Un caso di chiluria indigena. Giorn. intern. sci. med. 1882, p. 84.

— Potagenesi ed etiologia della chiluria. Ibid., p. 420.

Prudden. An experimental study of the action of salicylic acid upon blood-cells and upon amoeboid movements and emigration. Amer. jl. med. sci. No. CLVI, p. 64.

Quittel, Paul. Ueber die Conservirung des Fleisches in sanitätspolizeilicher Beziehung. D. Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege, Bd. XIV, S. 418.

Raimondi e Bertoni. Sull' azione tossica dell' idrossilamina. Instit. lombard., Vol. XV, p. 122.

Ramann, E. und Will, H. Beitrag zur Statik des Waldbaus. Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen, Bd. XIII, S. 417.

Reichardt. Ueber den Nachweis einer Blausäurevergiftung acht Wochen nach dem Tode. Sitzungsber. d. Jena. Ges. f. Med. u. Naturw. 1881, S. 36.

Reichardt, H. und Bittmann, C. Ueber die Bestimmung des Rohrzuckers neben optisch-activen Substanzen. Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 1882, S. 764.

Reinhard. Ueber Zersetzungsvorgänge in den Gräbern und Grüften der Friedhöfe. Jahresber. d. sächs. Med.-Coll., Bd. XI, S. 148.

Reinke, J. Theoretisches zum Assimilationsproblem. Bot. Zeit. 1882, No. 18, 19.

Renk. Conservirung von Nahrungsmitteln. Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege, Bd. XIII, S. 36.

Richet. Substance réductrice dans l'urine. Gaz. méd. de Paris 1882, p. 66.

— **et Rondeau.** Des phénomènes de la mort par le froid chez les mammifères. Ibid., p. 599.

Rinck, L. Enthält die Grundluft Ammoniak? Sitzungsber. d. phys.-med. Soc. Erlangen, Bd. XII, S. 119.

Roberts. Les ferments digestifs, la préparation et l'emploi des aliments artificiellement digérés. Bibl. biol. internat. T. VII.

— A new test for albumin in urine. Lancet, Vol. II, p. 613.

Robinet und Pellet. Conservirende Eigenschaft der Salicylsäure, Répert. de pharm., Vol. 10, p. 258.

Rössler, L. Nachweis von Inosit im Wein. Mitth. d. k. k. chem. physiol. Versuchsstat. i. Klosterneuburg bei Wien.

van Romburgh, P. Sur les formines de la glycérine. Maandblad voor Naturwetenschappen, Vol. 11, p. 8.

Rosenberger. Experimentelle Studien über Septicaemie. Med. Centralbl. 1882, S. 65.

Rosenthal, J. Athembewegungen. Thierische Wärme. Hermann's Handb. d. Physiol., Bd. IV, Th. 2.

Roser, Karl. Beiträge zur Biologie niederster Organismen. D. med Wochenschr., Bd. VII, S. 539.

Rossbach. Ueber die Vermehrung der Bacterien im Blute lebender Thiere nach Einverleibung eines chemischen organismenfreien Ferments. Med. Centralbl. 1882, S. 81.

Rudkow. Einfluss verschiedener Ernährung auf Grösse und Gestalt des Verdauungsapparates und auf das Wachsthum von Thieren. Teschendiel klin. Gaz. 1882, No. 15—21.

Rühl. Ueber den Uebergang von Riechstoffen in den Harn bei Nephritis und seine diagnostische Verwerthung. I.-D. Göttingen 1881.

Rütz, Otto. Anleitung zur Prüfung von Trinkwasser und Wasser zu gewerblichen Zwecken, nebst Methoden zur Beurtheilung des Trinkwassers. Neuwied und Leipzig.

Sänger. Ueber die Harnstoffausscheidung nach Elektrisirung der Leber. I.-D. Göttingen 1881.

Salkowski, E. Chemische Untersuchungen der Berlin-Osdorfer Drain- und Rieselwässer. Ber. d. Deputation f. d. Verwalt. d. Canalisationswerke Berlins 1882.

Salkowski und Leube. Die Lehre vom Harn. Berlin.

Samson-Himmelstjerna. Experimentelle Studien über das Blut in physiologischer und pathologischer Beziehung. I.-D. Dorpat.

Sanguirico. Sull' influenza del salasso sulla nutrizione dei tessuti. Arch. p. l. sci. med., Vol. 6, p. 129.

Sasse. Zur Chemie der Descemet'schen Membran. Unters. a. d. Physiol. Inst. Heidelberg, Bd. II, H. 4, S. 433.

Schäfer. On the alleged digestive capabilities of the white blood-corpuscle. Brit. med jl. No. 1134, p. 573.

Schær, E. Ueber Oleum folior. Cinnamomi Zeylanici. Arch. d. Pharm., Bd. 17, S. 492.

Scherff. Ueber Milchconservirung. Arch f. Kinderheilk., Bd. 3, S. 123.

Schimper. Researches on the growth of starch grains. Stud. biol. lab. John Hopkins Univ., Vol. II, No. 3, p. 353.

Schlickum, O. Maassanalytische Bestimmung der freien oder an Basen gebundenen Phosphorsäure. Arch. d. Pharm., Bd. 15, S. 235.

Schlösing, Th. Ueber Fixation des atmosphärischen Stickstoffs durch den Boden. Ann. de chim. et de phys., Vol. 24, p. 284.

Schmidt-Mülheim, A. Ueber fadenziehende Milch. Landw. Vers.-Stat., Bd. 28 S. 91.

— Beitrag zur Kenntniss der Eiweisskörper der Kuhmilch. Arch. d. Pharm. 1882, S. 291.

Schmitt. Untersuchungen zur Analyse des Weins. Nach den Beschlüssen der Versammlung rheinischer Oenochemiker zu Neustadt-Mainz. Repert. f. analyt. Chemie 1882.

Schmitz, A. Enthält der Kartoffelzucker gesundheitsschädliche Stoffe? D. Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege, Bd. **XIV**, S. 481.

Schnutz. Milchprüfung. Veröffentl. d. k. d. Gesundheitsamtes 1882, No. 2.

Schrodt. Milchertrag der Kühe auf der Kieler Versuchsstation. Milchzeitung 1882, S. 41, 57.

Schulze, B. Ueber Fettbildung im Thierkörper. Landwirthsch. Jahrb. 1882, S. 57.

Schulze, E. Ueber das Vorkommen von Hypoxanthin im Kartoffelsaft. Landw. Versuchsstat., Bd. **28**, S. **111**.

— Zur quantitativen Bestimmung der Eiweissstoffe und der nicht-eiweissartigen Stickstoffverbindungen in den Pflanzen. Landw. Versuchsstat., Bd. **27**, S. **449**.

— **und Engster.** Beitrag zur Kenntniss der stickstoffhaltigen Bestandtheile der Kartoffelknollen. Landw. Versuchsstat., Bd. **28**, S. 357.

Schwarz. Der forensisch-chemische Nachweis des Gelsemins in thierischen Flüssigkeiten und Geweben mit Berücksichtigung seiner Unterscheidung von Strychnin und diesem verwandten Alkaloiden. I.-D. Dorpat.

Seifert. Ueber Acetonurie. Würzburg.

Semmola. Sull' origine ematica dell' albuminuria di Bright. Giorn. intern. sci. med. 1882, p. 487.

Senator. Die Albuminurie im gesunden und kranken Zustande. Berlin.

Sestini, F. Ueber die Zusammensetzung der Ulminverbindungen. Landw. Versuchsstat., Bd. **XXVII**, S. 163.

Shenstone. Ueber Alkaloide der Nux vomica. Pharm. journ. and transact. (4) No. 603, p. 372.

Siebold und Bradburg. Ueber ein Alkaloid im indischen Hanf. Pharm. journ. and transact. (3) No. 590, S. 326.

Siewert, M. Ueber den Oxalsäuregehalt der Kartoffeln. Landw. Versuchsstat., Bd. **28**, S. 263.

Simpson, A. R. Hydramnios and the source of Liquor amnii. Edinburgh med. journ., p. 325.

Smetham. Verschiedene Sorten Kaffee. Repert. d. analyt. Chem. 1882, S. 218.

Smith, E. N. Untersuchungen über Ericaceen. Amer. journ. of pharm., Vol. **53**, p. 549.

Soldaini e Corona. Sugli alcaloidi cadaverici o ptomaïne del Selmi. Giorn. internaz. d. sci. med. 1882, p. 28.

Soxhlet, F. Araeometrische Fettbestimmung in Magermilch. Zeitschrift d. landw. Ver. in Bayern 1882, S. 18.

— Ueber Untersuchung von Milch. Dingler's polyt. Journ., Bd. **239**, S. 177.

Soxhlet. Versuche über die Fettbildung im Thierkörper. Zeitschr. d. landwirthsch. Vereins Bayern 1881.

Soxhlet, Behr. Darstellung von reinem Traubenzucker. Weinlaube, Bd. 14, S. 152.

Spina. Ueber Resorption und Secretion. Leipzig.

Starke. Bidrag til Stutiet af serumalbumin och hönsaggalbumin. Upsala läkare foren. Förhandl. 1882.

Stephen. The volumetric estimation of albumin in urine. Lancet, Vol. II, p. 614.

Sternberg, G. M. Desinficirende Wirkung der Carbolsäure. Amer. journ. of pharm., Vol. LIII, p. 579.

— Experiments with desinfectants. Nat. board of health bull. Vol. III, No. 4.

Sternberg. A fatal form of septicaemia in the rabbit induced by the injection of human saliva. Stud. biol. lab. John Hopkins univ. Baltimore, Vol. 2, p. 183.

— Experiments with desinfectants. Ibid., p. 203.

— Virulence of normal human saliva. Philadelphia med. Times No. 390, p. 80.

Stokvis. Loose aanteckeningen omtient urine onderzoek. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1882, Feestnommer, p. 105.

Stutzer, A., Fassbender, G. und Klingenberg, W. Nahrungsmittel-Untersuchungen. Repert. f. analyt. Chem. 1882, S. 161.

Symes. Antiseptische Versuche mit Zimmtsäure. Industr. Bl., Bd. 19, S. 373.

Symons. Unterscheidung von Stärkearten mittelst des Quellungsverfahrens. Arch. d. Pharm. 1882, S. 21, 73.

Taylor, Thomas. Erkennung einer Verfälschung natürlicher Butter. Milchzeitung 1882, S. 27.

van Tieghem und Bonnier, G. Untersuchungen über das latente Leben der Samen. Bull. soc. bot. de France, T. 29.

Tisné, Ch. De l'usage interne de glycérine et de ses effets thérapeutiques. Thète. Paris.

Tresh. Ueber Ingwerharz und Ingweröl. Pharm. journ. and transact. (4) No. 586, p. 243, und No. 610, p. 121.

Troickij. Pharmakologie der Blüthen von Convallaria majalis Wratsch 1882, No. 18, p. 40, 41. (Russ.)

Troppmann. Ueber Blätter von Rhododendron occidentale. Amer. journ. of pharm., Vol. 54, p. 177.

Tschernyschew. Die Pharmakologie der wirksamen Bestandtheile von Blatta orientalis. I.-D. Petersburg.

Tschirch, A. Ueber Chlorophyll. Sitzungsber. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenburg.

Tschirwinski. Die Bildung von Fett im thierischen Organismus. Moskau.

Tollens, B. Verhalten von Rohrzuckerlösungen gegen Alkali- und Kupferlösungen. Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 1882, S. 712.

Tollens. Ueber Formaldehyd und Oxymethylen. Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 1882, S. 703.

— Ammoniakalische Silberlösung als Reagens auf Aldehyde. Ibid.. S. 707.

Uffelmann. Handbuch der privaten und öffentlichen Hygiene des Kindes. Leipzig 1881.

Ulbricht, R. Zuckerbestimmung in Most und Wein. Landw. Versuchsstat., Bd. **27**, S. 77, 257.

Vaccius, Ch. Milchertrag einer castrirten Kuh. Alpwirthschaftl. Monatsbl. 1882, S. 35.

Vallin, E. Der Salicylsäurezusatz zu den Nahrungsmitteln. Rev. d'hyg., Vol. **III**, p. 265, 351.

— Traité des désinfectants. Paris.

Vaughan. The force-value of foods. Rep. sec. state bd. of health of Michigan. U. S. A. 1882, p. 49.

Vella. Neues Verfahren zur Gewinnung reinen Darmsaftes und Feststellung seiner physiologischen Eigenschaften. Moleschott's Unters. z. Naturlehre, Bd. **13**, S. 40.

Vogler. Schwankungen des Sauerstoffgehalts der atmosphärischen Luft. Naturforscher, Bd. **15**, S. 245.

Voit. Ueber die Bedeutung der Galle für die Aufnahme der Nahrungsstoffe im Darmkanal. Beitr. z. Biol. Stuttgart 1882.

Volkens, G. Wasserausscheidung in liquider Form an den Blättern höherer Pflanzen. I.-D. Berlin.

Vulpian. Cours de pathologie expérimentale. Leçons sur l'action physiologique des subsances toxiques et médicamenteuses.

Warden. Notiz über einen zweiten Giftstoff in Thevetia nerei folia. Pharm. journ. and transact. 1882, p. 41.

Warington. Some practical aspects of recent investigations on nitrification. Journ. of the soc. of arts 1882, p. 532.

Wartha, V. Ueber eine einfache Methode zur Bestimmung der temporären Härte des Wassers. Journ. f. Gasbeleucht. u. Wasservers. München, Bd. **XXIV**, S. 162.

Weber. Ueber eine Cyanwasserstoff bereitende Drüse. Arch. f. mikr. Anat., Bd. **XXI**, S. 468.

Weidmann, U. Untersuchungen über die Zusammensetzung und den Reifungsprocess des Emmenthaler Käses. Landw. Jahrb. 1882, S. 587.

Weiske, H. und Dehmel, B. Versuche über den Einfluss der Temperatur, des Futters und des öfteren Scheerens auf die Wollproduction. Journ. f. Landw. 1882, S. 253.

Weiske, H., Kennepohl, G. und Schulze, B. Zur Frage über das Futterverwerthungsvermögen verschiedener Schafracen. Journ. f. Landw. 1882, S. 401.

Wernich, A. Die aromatischen Fäulnissproducte in ihrer Einwirkung auf Spalt- und Sprosspilze. D. med. Wochenschr., Bd. **VII**, S. 204.

West-Knights, J. Ueber eine neue Methode der Bestimmung der Nitrate im Trinkwasser. Analyst, Bd. **VI**, S. 56.

Weyl. Analytisches Hülfsbuch für die physiologisch-chemischen Uebungen. Berlin.

Wilischania. Ueber den Umsatz stickstoffhaltiger Substanzen bei Icterus. Tescheniediel. klin. Gaz. 1882, No. 37.

Willgerodt Ueber Ptomaïne mit Bezugnahme auf die bei gerichtlich-chemischen Untersuchungen zu berücksichtigenden Pflanzengifte. Berlin.

Williams, M. W. Einfacher Process zur Bestimmung der Salpetersäure im Wasser. Analyst, Bd **VI**, S. 39.

Williams. A study of the toxic action of iron. Boston med. and surg. jl., Vol. **107**, p. 105.

Wilson, W. F. Ueber Pflanzenathmung. Flora 1882, No. 6.

Winter-Blyth. Fettbestimmung in der Milch nach Clausnizer und Mayer. Analyst, Bd. 7, S. 136.

Wittmack, L. Wie erkennt man Roggenmehl neben Weizenmehl? Deutsche landw. Presse.

Worm-Müller. Menneske urinens forhold til Kobberoxyd og Kali og deraf betingende Modificatione i de Trommer'sche Pröve. Nord. med. arkiv, Vol. **XIII**, p. 20.

Zuntz, N. Blutgase und respiratorischer Gaswechsel. Hermann's Handb. d. Physiol, Bd. **IV**, Th. 2.

American chemical journal.

Vol. 4.

Clifford Richardson. On the composition of american grasses, p. 16.

Mixter, G. W. On Urea from ammonia and carbon dioxide, p. 35.

Parsons, Henry B. Aconitic acid in the scale from sorghum-sugar pans, p. 39.

Gaddling, Thomas S. Apparatus for the absolute determination of Nitrogen, p. 42.

Duggan, J. R. The estimation of urea by sodium hypobromite p. 47.

Loring Jackson, C. and Menke, A. E. On certain substances obtained from turmeric, p. 77.

Chittenden, R. H. and Ely, J. E. Influence of peptones and certain inorganic salts on the diastatic action of saliva, p. 107.

March, Charles W. Note on the ammonia-process for water analysis, p. 188.

Stillman, J. M. and O'Neill, E. C. On the occurrence of a new fat acid in the nut of the California bay tree, p. 206.

Mallet, I. W. Determination of organic matter in potable water, p. 241.

Archiv für experimentelle Pathologie.

Bd. 15.

Quincke, H. Ueber die Wärmeregulation beim Murmelthier, S. 1.

Kobert, E. R. Ueber den Einfluss verschiedener pharmakologischer Agentien auf die Muskelsubstanz, S. 22.

Speck. Untersuchungen über die Beziehungen der geistigen Thätigkeit zum Stoffwechsel, S. 81.

Ceci, Antonio. Ueber die in den malarischen und gewöhnlichen Erdbodenarten enthaltenen Keime und niederen Organismen, S. 153.

Cervello, Vincenzo. Ueber den wirksamen Bestandtheil des Adonis vernalis L., S. 235.

Graanboom, J. Zur quantitativen chemischen Zusammensetzung einiger menschlichen Organe bei verschiedenen pathologischen Zuständen, S. 299.

Schulz, Hugo. Vierte Abhandlung zur Theorie der Arsenwirkungen, S. 322.

Stadelmann, Ernst. Zur Kenntniss der Gallenfarbstoffbildung, S. 337.

v. Schröder, W. Ueber die Bildungsstätte des Harnstoffs, S 364.

Harnack, Erich und Zabrocki, W. Untersuchungen über das Erytrophleïn, den wirksamen Bestandtheil der Sassy-Rinde, S. 403.

Landerer. Einige Versuche über Gerinnung und über gelungene Transfusion nicht geschlagenen Blutes, S. 427.

Briliant, J. Zur Kenntniss der toxischen Wirkung des Phosphors und Phosphorwasserstoffs auf den thierischen Organismus, S. 439.

Rosenbaum, F. Untersuchungen über den Kohlehydratbestand des thierischen Organismus nach Vergiftung mit Arsen, Phosphor, Strychnin, Morphin, Chloroform, S. 450.

Faure. Pharmakologische Studien über schwefelsaures Methylstrychnin, S. 453.

Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.

Bd. XV, H. 13—19.

Roser, W. Zur Kenntniss der Xeronsäure und Pyrocinchonsäure, S. 2012.

Tiemann, Ferd. und Kraaz, R. Zur Constitution des Eugenols, S. 2059.

— Ueber einige Abkömmlinge der Homoferulasäure, S. 2070.

Laar, Conrad. Ueber die Anwendung von Diphenylamin und Anilin in der qualitativen Analyse, S. 2086.

Bæyer, Adolf und Oekonomides, Spir. Ueber das Isatin, S 2093.

Traube, J. Ueber die Einwirkung des Chlorcyans auf Amidosäuren, S. 2111.

— Zur Kenntniss der Uromidobenzoësäure und der Harnstoffdibenzoësäure, S. 2122.

Urech, F. Zur strobometrischen Bestimmung der Invertirungsgeschwindigkeit von Rohrzucker und des Uebergangs der Birotation von Milchzucker zu seiner constanten Drehung, S. 2130.

v. Gerichten, E. und Schrötter, Hugo. Ueber Morphin, S. 2179.

Gabriel, S. Zur Kenntniss der Hydrozimmt- und der Zimmtsäure, S. 2291.

Hofmann, A. W. Zur Geschichte des Conydrins, S. 2313.

Traube, Moritz. Ueber die Oxydation des Kohlenoxyds durch Palladiumwasserstoff und Sauerstoff, S. 2325.

Claus, Ad. Zur Kenntniss des Amarins, S. 2326.

Hummel, J. J. und Perkin, A. G. Ueber einige Verbindungen des Hämateïns und Brasileïns, S. 2337.

Roser, W. Pyrocinchonsäureanhydrid und Hydromuconsäureanhydrid, S. 2347.

Hesse, O. Wasserfreier Traubenzucker aus wässeriger Lösung, S. 2349.

Geppert, J. Eine Verbesserung der gasanalytischen Methoden, S. 2403.

Japp, Francis R. Constitution des Lophins, des Amarins und des Glyoxalins, S. 2410.

Tobias, G. Ueber das Verhalten der Alkaliphosphate zu einigen Indicatoren, S. 2452.

Urech, F. Ueber Massenwirkung und Zeitverbrauch bei der Inversion von Saccharose, S. 2457.

Möhlau, Richard. Ueber Diphenyldiisoindol, S. 2480, 2490.

Hjelt, Edv. und Collan, Uno. Ueber die Zusammensetzung des sogenannten Ledumcamphers, S. 2500.

Widmann, Oskar. Ueber eine neue Synthese von Indol aus Cuminol, S. 2547.

Liebermann, Leo. Nachweis der schwefligen Säure im Wein, S. 2553.

Horbaczewski, Johann. Synthese der Harnsäure, S. 2678.

Urech, F. Messungen der Ausscheidungsgeschwindigkeit von Kupferoxydul durch Invertzucker aus Fehling'scher Kupferlösung, S 2687.

Perkin, W. H. (jun.). Condensationsprodukte des Oenanthols, S. 2802.

Conrad, M. und Guthzeit, M. Ueber Barbitursäurederivate, S. 2844.

Schwebel, P. Ueber das optische Drehungsvermögen einiger Salze des Nicotins, S. 2850.

Traube, Moritz. Ueber das Verhalten von Platin oder Palladium gegen Kohlenoxyd oder Wasserstoff bei Gegenwart von Sauerstoff und Wasser, S. 2854.

Beilstein, F. und Wiegand, E. Ueber einige ätherische Oele, S. 2854.

Schulze, E. Abscheidung des Asparagins aus Flüssigkeiten, S. 2855.

Bæyer, Adolf und Drewsen, Viggo. Darstellung von Indigoblau aus Orthonitrobenzaldehyd, S. 2856.

Kiliani, Heinrich. Ueber Saccharin und Saccharinsäure, S. 2953.

Nevile, R. H. C. und Winther, A. Ueber Orcin und einige andere Dioxytoluole, S. 2976.

Hesse, O. Ueber Hydroconchinin und Conchinin, S. 3008.

Berliner klinische Wochenschrift

19. Jahrgang.

Senator, H. Bemerkungen über die Verwerthung von Nierenkrankheiten für eine Theorie der Harnabsonderung, S. 649.

Riess, L. Ueber Vergiftung mit chlorsaurem Kalium, S. 785.

Fleischer, R. Ueber die Verdauungsvorgänge im Magen unter verschiedenen Einflüssen, S. 97.

Quincke, H. Zur Kenntniss der Salicylsäurewirkung, S. 709.

Lichtheim, L. Ueber pathogene Schimmelpilze, S. 129, 147.

Penzold, F. Ueber die Resorptionsfähigkeit der menschlichen Magenschleimhaut und ihre diagnostische Verwerthung, S. 313.

Schuchardt, Karl. Ein Beitrag zur Lehre von der Albuminurie, S. 618.

Ruge, Max. Luft in den Lungen todtgeborener Kinder, S. 275.

Binz, C. Ozonisirte Luft, ein schlafmachendes Gas, S. 6, 17, 645.

Filehne, Wilh. Ueber neue Mittel, welche die fieberhafte Temperatur zur Norm bringen, S. 681.

Bumm, Ernst. Ueber transitorische Albuminurie und Melliturie bei Delirium tremens, S. 378.

Biedert, Ph. Ueber Milchconservirung, S. 75.

Kulenkampff, D. Ein Fall von Pancreas-Fistel, S. 102.

Fischer, E. Untersuchungen über die Wirkung des Naphtalin, S. 113, 135.

Leber, Th. Ueber die Wachsthumsverhältnisse der Schimmelpilze im menschlichen und thierischen Körper, S. 161.

Harnack, Erich. Ueber den Nachweis des Jods im Harn nach der Anwendung von Jodoform, S. 297.

Lehmann, Ernst. Zur Wirkung des kohlensauren Kalks und der kohlensauren Magnesia, S. 320.

Glax, Julius. Ueber die bei pleuritischen Exsudaten ausgeschiedenen Harnmengen, S. 475.

Reichmann, M. Ein Fall von krankhaft gesteigerter Absonderung des Magensaftes, S. 606.

Hirsch, Aug. Ueber Filaria sanguinis hominis, S. 613.

von Mering. Ueber die hypnotisirende und anästhesirende Wirkung der Acetale, S. 648.

Pfeiffer, Emil. Verschiedenes über Muttermilch, S. 666, 684, 727.

Biedert. Ueber die Natur des Eiweisskörpers der Muttermilch, S. 765.

Harnack, L. Zum Jodnachweis im Harn, S. 788.

Bulletin de la société chimique.

T. 37, 38.

Naudin, Laurent. Sur l'essence d'angélique, T. **37**, p. 107.

Oechsner de Coninck. Sur la quinoléinne dérivée de la cinchonine, p. 208.

Le Bel. Formules géométriques des acides maléique et fumarique déduites de leurs produits d'oxydation, p. 300.

Chapoteaut. Sur l'essence de santal, p. 303.

Gautier, A. et Etard, A. Communication préventive sur les bases d'origine putréfactive, p. 305.

Wérigo, Przybytek. Oxydatiou de la glycérine par l'acide azotique, p. 342.

Guyard, Anthony. Sur le dosage de l'acide nitrique et nitreux à l'état d'ammoniaque, p. 445.

Cazeneuve, P. Sur un cas d'isomérie du camphre dichloré, T. **38**, p. 8.

Cazeneuve, P. Sur un nouveau camphre monochloré, p. 9.
Grimaux, Ed. Sur les colloides azotés, p. 64.
Chandelon, Th. Note sur le dosage volumétrique du phénol, p. 69.
— Action des hypochlorites alcalins sur le phénol, p. 116.
Grimaux, Ed. Action du brome sur la quinoléine et sur la pyridine, p. 124.
Sokoloff. Action de l'acide azotique sur la mannite et la lactose, p. 138.
Riban, J. Sur la décomposition de quelques acétates métalliques en présence de l'eau, p. 156.
Dreyfus. Dosage de la potasse dans les engrais, p. 162.
Bardsky. Sur l'oxydation au contact de l'air des différentes huiles essentielles (essences de menthe, de thérébentine, d'eucalyptus), p. 378.
Rémont, A. Dosage de l'acide salicylique dans le lait et le beurre, p. 547.
Henninger. Sur la methémoglobine, p. 609.
Oechsner et Pinet. Action physiologique de la picoline, p. 609.

Deutsches Archiv für klinische Medicin.

Bd. 31 und 32.

Ebstein, Wilhelm. Ueber das Vorkommen von Magnesiumsulfat im Harn von Magenkranken, Bd. **31**, S. 203.
Naunyn, B. Ueber das Verhältniss der Magengährungen zur mechanischen Mageninsufficenz, S. 225.
Jürgensen, Theodor. Luft im Blute, S. 441.
Curschmann. Ueber Bronchiolitis exsudativa und ihr Verhältniss zum Asthma nervosum, Bd. **32**, S. 1.
Peters, Gustav. Beobachtungen über Eisenablagerung in den Organen bei verschiedenen Krankheiten, S. 182.
Bostrœm, Eugen. Ueber die Intoxicationen durch die essbare Lorchel (Helvella esculenta), S. 209.
Krukenberg, Georg. Thermometrische Untersuchungen über die Wirkung verschieden temperirter Vollbäder, S. 315.
Boas, Isidor. Beitrag zur Lehre von der paroxysmalen Hämoglobinurie, S. 355.
Surbeck, Victor. Ueber die fieberwidrige Wirkung des Resorcins und seiner Isomeren, S. 515.
Bettelheim, Karl. Beitrag zur Lehre von der «Pneumonia biliosa», S. 591.

Gazzetta chimica italiana.

Vol. XI, fasc. 9 — Vol. XII, fasc. 10.

Macagno, J. Sopra talune alterazioni del succo di limone e sulla determinazione del titolo commerciale di questo prodotto, Vol. **XI**, p. 443.
Spica, P. Sopra un preteso reagente atto a far distinguere le ptomaine dagli alcaloidi vegetali, p. 488.

Canizzaro, S. e Carnelutti, G. Sui due acidi isomeri santonoso e isosantonoso, p. 293.

Scichilone, S. e Deraro, A. Sulla mannitina, nuovo alcaloide ottenuto dalla mannite, p. 416.

Spica, G. Sopra un nuovo acido estratto da Psoroma crassum, p. 431.

Scichilone, S. e Magnanimi, O. Distillazione della stricnina sullo zinco, p. 444.

Schiff, U. Ricerche intorno ad alcuni glicosidi, p. 460.

Ciamician, G. L. e Dennstedt, M. Sopra alcuni derivati dell' acido citraconico, p. 500.

Coppola, F. Sulla genesi delle ptomaine, p. 511.

Monatshefte für Chemie.

III. Bd.

Maly, R. und Hinteregger, Fr. Studien über Caffeïn und Theobromin, S. 85, 92.

Herzig, J. Ueber die Constitution des Guajols, S. 118.

Goldschmiedt, G. und Herzig, J. Ueber das Verhalten der Kalksalze der drei isomeren Oxybenzoësäuren und der Anissäure bei der trockenen Destillation, S. 126.

— Notiz über das Vorkommen von Bernsteinsäure in einem Rindenüberzug auf Morus alba, S. 136.

Brücke, Ernst. Ueber die Nachweisung von Harnstoff mittelst Oxalsäure, S. 195.

Haitinger, Ludwig. Vorläufige Mittheilung über Glutaminsäure und Pyrrol, S. 228.

Reinitzer, B. Studien über das Verhalten der Acetate des Chroms, Eisens und Aluminiums, S. 249.

— Analyse eines vegetabischen Fettes, S. 266.

Maly, R. Ueber das Basen-Säureverhältniss im Blutserum und anderen thierischen Flüssigkeiten. Ein Beitrag zur Lehre von der Secretbildung, S. 309.

Emich, Friedrich. Ueber das Verhalten der Rindsgalle zu der Hüfner'schen Reaction und einige Eigenschaften der Glycocholsäure, S. 325.

Mauthner, Julius. Ueber das optische Drehungsvermögen des Tyrosins und Cystins, S. 343.

Wegscheider, Rudolf. Ueber Derivate und Constitution der Opiansäure und Hemipinsäure, S. 348.

Singer, Max. Beiträge zur näheren Kenntniss der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe, S. 395.

Andreasch, R. Ueber gemischte Alloxantine, S. 428.

— Ueber Cyamidoamalinsäure, S. 433.

— Ueber ein Reductionsproduct des Cholestrophans, den Dimethylglyoxylharnstoff, S. 436.

Vortmann, G. Ueber eine neue Methode der directen Bestimmung des Chlors neben Brom und Jod und des Broms neben Jod, S. 510.

Skraup, Id. H. Synthetische Versuche in der Chinolinreihe III, IV. S. 381, 531.

Weidel, H. und Brix, R. Zur Kenntniss der Cinchon- und Pyrocinchonsäure, S. 603.

Etti, C. Ueber Verbindungen des Vanillins mit Pyrogallol und Phloroglucin, S. 637.

v. Barth, L. und Schreder, J. Ueber die Einwirkung von schmelzendem Aetznatron auf Orcin und Gallussäure, S. 645.

Habermann, J. und Hönig, M. Ueber die Einwirkung von Kupferoxydhydrat auf einige Zuckerarten I, S. 651.

Nachbaur, C. Untersuchung der Embryonen von ungekeimtem Roggen, speciell auf ihren Gehalt an Diastase, S. 673.

Zatzek, E. Zur Kenntniss des Bienenwachses, S. 677.

Haitinger, L. Ueber das Vorkommen organischer Basen im käuflichen Amylalkohol, S. 688.

Lustgarten, Sigm. Ueber den Nachweis von Jodoform, Naphtol und Chloroform in thierischen Flüssigkeiten und Organen, S. 715.

Gintl, Wilhelm und Reinitzer, Friedrich. Ueber die Bestandtheile der Blätter von Fraxinus excelsior L., S. 745.

Weidel, H. und Hazura, K. Ueber das Cinchonin, S. 770.

Wegscheider, Rud. Ueber Isovanillin, S. 789.

Horbaczewski, Joh. Synthese der Harnsäure, S. 796.

Barth, L. und Schreder, J. Ueber das Verhalten der Benzoësäure in der Kalischmelze, S. 799.

Herzig, J. Ueber Guajakonsäure und Guajakharzsäure, S. 822.

Weidel, H. und Russo, M. Studien über das Pyridin, S. 850.

Proceedings of the royal society.

Vol. 33.

Greville Williams, C. On β-Lutidine, p. 159.

Sell, W. J. On a series of salts of a base containing chromium and urea, p. 267.

Byrne Power, J. On the excretion of nitrogen by the skin, p. 354.

Zeitschrift für Biologie.

Bd. 18.

Emmerich, Rudolf. Ueber die Bestimmung des Fettgehaltes der Milch, S. 1.

Kuckein, Franz. Beitrag zur Kenntniss des Stoffverbrauchs beim hungernden Huhn, S. 19.

Hasebrock, Karl. Ein Beitrag zur Kenntniss der Blutgerinnung, S. 41.

Ohlmüler, Wilhelm. Ueber die Abnahme der einzelnen Organe bei an Atrophie gestorbenen Kindern, S. 78.

Valentin, G. Die Orte und Breiten der Blutbänder, S. 173.

Camerer, W. Der Stoffwechsel von fünf Kindern im Alter von drei bis dreizehn Jahren, S. 220.

Voit, C. Abwehr gegen die Angriffe von Prof, Edmund Pflüger in Bonn, S. 406.

Jaworski, W. Versuche zur Ausmittelung der Gesammtmenge des flüssigen Inhalts im menschlichen Magen, S. 427.

Bentzen, G. E. Die Kohlensäure in der Grundluft, S. 446.

Camerer. Versuche über den Stoffwechsel von Kindern bei ausschliesslicher Milchnahrung, S. 488.

Mayer, Adolf. Ueber die Nägeli'sche Theorie der Gährung ausserhalb der Hefezellen, S 522.

Nägeli, C. Ueber Gährung ausserhalb der Hefezellen, S. 543.

Hasse, Sophie. Ueber die Ernährung von Kindern im Alter von 2—11 Jahren, S. 553.

von Hœsslin, Hermann. Ueber Ernährungsstörungen in Folge Eisenmangels in der Nahrung, S. 612.

Zeitschrift für klinische Medicin.

Bd. 4 und 5.

Nothnagel, H. Zur Klinik der Darmkrankheiten II, III, Bd. 4, S. 223, 422.

Brieger, L. Ueber die antipyretische Wirkung des Chinolinum tartaricum, S. 296.

Kempner, G. Ueber den Sauerstoffverbrauch des Menschen bei Einathmung sauerstoffarmer Luft, S. 391.

Peiper, E. Uebergang von Arzneimitteln in die Galle nach Resorption von der Mastdarmschleimhaut aus, S. 402.

Hiller, A. Ueber die subcutane Anwendung von Abführmitteln, S. 481.

Nothnagel, H. Experimentelle Untersuchungen über die Darmbewegungen, insbesondere unter pathologischen Verhältnissen, S. 532.

Scherpf, L. Der Hämoglobinmangel des Blutes und sein Verhalten während einer Stahlkur, S. 575.

Levy, S. Ueber den Einfluss der verdünnten Luft auf den Stoffwechsel der Taube, S. 617.

Grefberg, W. Ueber den Einfluss des warmen Bades auf den Blutdruck und die Harnsecretion, Bd. 5, S. 71.

Küstner, O. Zur Kritik der Beziehungen zwischen Faecalstase und Fieber, S. 186.

Hagens. Die Verwendbarkeit des Chinoideum citricum im Vergleich mit anderen Fiebermitteln, S. 242.

Seemann, H. Ueber das Vorhandensein freier Salzsäure im Magen, S. 272.

Ehrlich, P. Ueber eine neue Harnprobe, S. 285.

v. Jaksch, R. Ueber pathologische Acetonurie, S. 346.

Arnheim, Fr. Ueber das Verhalten des Wärmeverlustes der Hautperspiration und des Blutdrucks bei verschiedenen fieberhaften Krankheiten, S. 363.

Grunmach, E. Ueber den Einfluss der verdünnten und verdichteten Luft auf die Respiration und Circulation, S. 469.

Schmuziger, F. Beitrag zur Kenntniss der Wasser- und Eiweissausscheidung durch die Nieren, S. 610.

Oppenheim, Hermann. Casuistischer Beitrag zur Polyurie, S. 618.

Archiv für experimentelle Pathologie.

Bd. 16, 17.

Ceci, Antonio. Ueber die in den malarischen und gewöhnlichen Erdbodenarten enthaltenen Keime und niederen Organismen, Bd. **16**, S. 1.

Stadelmann, Ernst. Weitere Beiträge zur Lehre vom Icterus, S. 118.

Hoffmann, F. A. Globulinbestimmungen in Ascitesflüssigkeiten, S. 133.

Valentin, G. Ueber Giftwirkungen im luftverdünnten Raume, S. 143.

Schmiedeberg, O. Beiträge zur Kenntniss der pharmakologischen Gruppe des Digitalins, S. 149.

Pistorius, Hugo. Beiträge zur Pathologie der acuten Arsenikvergiftung, S. 188.

Stadelmann, Ernst. Die Arsenwasserstoffvergiftung. Ein weiterer Beitrag zur Lehre vom Icterus, S. 221.

Schulz, Hugo und Mayer, J. Nep. Weiterer Beitrag zur Kenntniss der Wirkung der Oxalbasen auf den Thierkörper, S. 256.

Cervello, Vincenz. Ueber die physiologische Wirkung des Paraldehyds und Beiträge zu den Studien über das Chloralhydrat, S. 265.

Willoughby Miller. Der Einfluss der Mikroorganismen auf die Caries der menschlichen Zähne, S. 291.

Burckhardt, A. E. Beiträge zur Chemie und Physiologie des Blutserums, S. 322.

Kronecker, Franz. Ueber die Hippursäurebildung beim Menschen in Krankheiten, S. 344.

Kobert, Rud. Zur Pharmakologie des Mangans und Eisens, S. 361.

Hofmeister, Franz. Ueber die physiologische Wirkung der Platinbasen, S. 393.

Pellacani, Paolo. Ueber die wirksamen Bestandtheile des gemeinen Schwarzkümmels (Nigella sativa), S. 440.

Lewuschew und Klikowitsch. Zur Frage über den Einfluss alkalischer Mittel auf die Zusammensetzung der Galle, Bd. **17**, S. 53.

v. Schrœder. Untersuchungen über die pharmakologische Gruppe des Morphins, S. 96.

Harnack und Hafemann. Pharmakologische Studien am isolirten Froschherzen mit besonderer Berücksichtigung des Atropins und des Kupfers, S. 145.

Stokvis und van de Velde. Experimentelle Beiträge zur Frage der Hippursäurezerlegung im lebenden Organismus, S. 189.

Quincke. Ueber das Verhalten des Harns nach Gebrauch von Copaivabalsam, S. 273.

Speck. Ueber Luftcuren, S. 278.

Albertoni, Pietro. Ueber die Wirkung des Cotoins und des Paracotoins, S. 291.

Meyer und Feitelberg. Studien über die Alkalescenz des Blutes, S. 304.

Pellacani. Zur Pharmakologie der Camphergruppe, S. 369.

Hlava. Die Beziehung der Blutplättchen Bizzozero's zur Blutgerinnung und Thrombose. Ein Beitrag zur Histogenese des Fibrins, S. 392.

Stadelmann. Ueber die Ursachen der pathologischen Ammoniakausscheidung beim Diabetes mellitus und des Coma diabeticum, S. 419.

Minkowski. Ueber Spaltungen im Thierkörper, S. 445.

Glævecke. Ueber subcutane Eiseninjectionen, S. 466.

Archiv für Physiologie.

1883.

von Ott. Ueber die Bildung von Serumalbumin im Magen und über die Fähigkeit der Milch, das Froschherz leistungsfähig zu halten, S. 1.

Steiner, Is. Schluckcentrum und Athmungscentrum, S. 57.

Langendorff, O. Studien über die Innervation der Athembewegungen. Sechste Mittheilung. Das Athmungscentrum der Insecten, S. 80.

Ogata, M. Ueber die Verdauung nach Ausschaltung des Magens, S. 89.

Weyl, Th. Physiologische und chemische Studien am Torpedo, S. 117.

Schiffer. Ueber die toxische Substanz im Harn, S. 127.

Klug, Ferd. Ueber den Einfluss der Kohlensäure und des Sauerstoffs auf die Function des Säugethierherzens, S. 134.

Fliess, Wilh. Das Piperidin als Anästheticum und die Beziehung desselben zu seinem Homologon Coniin, S. 190.

Winternitz, W. Entgegnung auf Herrn Zuntz' letzte Kritik über seine calorimetrische Methode, S. 254.

Martins. Ueber die Wirkung blutverdünnender Transfusion bei Fröschen, S. 257.

Munk, Immanuel. Ueber die Bildung von Fett aus Fettsäuren im Thierkörper, S. 273.

Baginsky, A. Ueber das Vorkommen und Verhalten einiger Fermente.

Brieger. Ueber giftige Alkaloide aus Eiweiss.

— Ueber eine neue Fäulnissbase.

Hoppe-Seyler, Georg. Ueber das physiologische Verhalten der Orthonitrophenylpropionsäure.

Schiffer, J. Ueber die Wirkung des Guachamaca-Giftes, S. 289.

Dogiel, Joh. Neue Untersuchungen über die Ursache der Geldrollenbildung im Blute, S. 356

Wooldridge, Leonard. Zur Gerinnung des Blutes, S. 389.

Ogata, Masaroni. Die Veränderungen der Pankreaszellen bei der Secretion, S. 405.

Brandt, C. Ueber Symbiose von Algen und Thieren, S. 445.

Lehmann, Curt. Ueber zwei Apparate zur künstlichen Respiration der Thiere.

Klug, Ferdinand. Ueber die Aufgabe der Lieberkühn'schen Drüsen im Dickdarm, S. 463.

Lebedeff, Alexander. Studien über Fettresorption, S. 488.

Baginsky, Adolf. Ueber das Vorkommen von Producten der Fäulniss im Fruchtwasser und im Meconium, Supplementband, S. 48.

Frédéricq, Léon. Expériences sur l'innervation respiratoire, S. 51.

Weyl, Th. Physiologische und chemische Studien an Torpedo, S. 105.

Senator, H. Ueber einige Wirkungen der Erwärmung auf den Kreislauf, die Athmung und Harnabsonderung, S. 187.

De Cyon, E. L'action des hautes pressions atmosphérique sur l'organisme animal, S. 212.

Ewald, C. A. Ueber Fettbildung durch die überlebende Darmschleimhaut, S. 302.

Munk, Hermann. Bewegung und Milchsecretion, S. 363.

Berliner klinische Wochenschrift.
Jahrgang 20.

Ewald, A. Ueber den Eiweissverlust, S. 277.

— Ueber Phosphorsäureausscheidung bei Paralysis agitans und verwandten Formen der Zitterlähmung, S. 484, 502.

Riess, L. Ueber die antipyretische Wirkung des Kairin, S. 817.

Ponfick, E. Ueber Hämoglobinämie und ihre Folgen, S. 389.

Orth, J. Notizen zur Färbetechnik, S. 421.

Penzoldt, F. Ueber den diagnostischen Werth der Harnreaction mit Diazobenzolsulfosäure und über deren Anwendung zum Nachweis von Traubenzucker, S. 201, 755.

Harnack, Erich und Gründler, J. Ueber die Form der Jodausscheidung im Harn nach der Anwendung von Jodoform, S. 723.

Meissen. Ueber das Vorkommen der Leyden'schen Asthmakrystalle, S. 332.

Petri. Zur Färbung des Koch'schen Bacillus in Sputis, sowie über das gleiche Verhalten einiger Pilzzellen, S. 739.

Filehne, Wilhelm. Weiteres über Kairin und analoge Körper, S. 77, 238.

Pfeiffer, Emil. Verschiedenes über Muttermilch, S. 158.

Lewin, L. Das Verhalten des Santonins im Organismus und seine therapeutische Verwendung, S. 170.

Baruch, Max. Zur Kenntniss der Nebenwirkung des Natron salicylicum, S. 350, 505.

Litten, M. Zur Pathologie des Blutes, S. 405.

Seifert, Otto. Extractum Piscidiae als Hypnoticum, S. 443.

Bidder, A. Ueber die Beziehungen des Alkalien der Nahrungsmittel (Nährsatze) zur Aetiologie der Tuberkulose, S. 675, 695, 729.

Fielitz. Ein weiterer Beitrag zur Kenntniss der «eigenthümlich verzweigten Gerinnsel» in den Darmausleerungen, S. 714.

Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften.

1883.

Trinkler, N. Zur Kenntniss des feineren Baues der Magenschleimhaut, insbesondere der Magendrüsen, S. 161.

Solger, Bernhard. Ueber die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyd auf thierische Gewebe, S. 177.

Glinsky, Alexis. Zur Kenntniss des Baues der Magenschleimhaut der Wirbelthiere, S. 225.

Zabludowski, J. Ueber die physiologische Bedeutung der Massage, S. 241.

Michailow, Wladimir. Farbstoff von Harn und Blutserum, S. 417.

Bizzozero, Julius. Die Blutplättchen im peptonisirten Blute, S. 529.

v. Cyon, E. Zur Frage der harnstoffbildenden Function der Leber, S. 544.

Willischanin, Paul. Ueber den Einfluss von grossen Wassermengen auf das Fieber, S. 673.

Krukenberg, C. Fr. W. Zur Kenntniss der Genese der Gallenfarbstoffe und der Melanine, S. 785.

Bikfalvi. Verwendung der Magenverdauung als Isolationsmethode, S. 833.

Andeer, Justus. Ueber das Resorcinblau, S. 849.

Bouma, G. Ueher Knorpeltinction mittels Saffranin, S. 865.

Comptes rendus.

T. 96.

Balland. Sur les blés germés, T. **96**, p. 425.

Oechsner de Coninck. Contribution à l'étude de l'isomérie dans la série pyridique, p. 437.

Blake, J. Sur le pouvoir toxique relatif des sels métalliques, p. 439.

Rosenstiehl. Sur les matières colorantes de la garance, p. 465.

Bochefontaine. Pouvoir toxique de la quinine et de la cinchonine, p. 503.

Reiset, J. Exhalation de l'azote à l'état de gaz, pendant la respiration des animaux, p. 549.

Chauveau, A. De l'atténuation directe et rapide des cultures virulentes par l'action de la chaleur, p. 553.

Hanriot. Dérivés de la Strychnine, p. 585.

Heckel, Ed. Sur la cristalline ou glaciale (Mesembryanthemum crystallinum L.), p. 592.

Chauveau, A. De la faculté prolifique des agents virulents atténués par la chaleur et de la transmission par génération de l'influence atténuante d'un premier chauffage, p. 612.

Durin, E. Sur les hydrocarbures des tourbes, p. 652.

Hayem, G. Expériences démontrant que les concrétions sanguines, formées au niveau d'un point lésé des vaisseaux, débutent par un dépôt d'hématoblastes, p. 653.

Chauveau, A. Dn rôle de l'oxygène de l'air dans l'atténuation quasi instantanée des cultures virulentes par l'action de la chaleur, p. 678.

Reiset, J. Observation sur le lait bleu, p. 682, 745.

Richard, P. Contribution à l'étude du plâtrage des vins. Dosage rapide de la crème de tartre, p. 792.

Fort, J. A. Des effets physiologiques du café, p. 793.

Cochin, D. Sur les divers effets produits par l'air sur la levure de bière, p. 852.

Etard et Richet, Ch. Dosage des matières extractives et du pouvoir réducteur de l'urine, p. 855.

Barbier, Ph. Sur les chlorhydrates liquides de thérébenthène, p. 1066.

Gaston Bonnier et Mangin, L. Recherches physiologiques sur les Champignons, p. 1075.

Sée, G. **et Bochefontaine**. Recherches expérimentales sur les effets physiologiques de la cinchonidine, p. 1081.

Poincaré. Sur les effets du séjour prolongé dans une atmosphère chargée de vapeurs de créosote, p. 1084.

Chamberland, Ch. **et Roux**, E. Sur l'atténuation de la virulence de la bactéridie charbonneuse, sous l'influence des substances antiseptiques, p. 1088, 1410.

Naudin, L. Recherches sur l'essence d'angélique de racines (Angelica officinalis), p. 1152.

Rummo. Etudes expérimentales sur l'action physiologique de l'iodoforme, p. 1162.

Pécholier et Redier. Nouvelles recherches expérimentales sur l'action physiologique de la vératine, p. 1165.

Blanchard, Raphaël. Sur les fonctions des appendices pyloriques, p. 1241.

Bert, Paul. Anesthésie prolongée obtenue par le protoxyde d'azote à la pression normale, p. 1271.

Gal, H. Recherche sur les dérivés métalliques des amides. Moyen de distinguer une monoamide d'une diamide, p. 1315.

Le Bel, J. A. De l'alcool amylique produit accessoirement dans la fermentation alcoolique, p. 1368.

Boussingault. Sur la culture du cacaoyer. Recherches sur la constitution des fèves de cacao et du chocolat, p. 1395.

Chauveau, A. Du rôle respectif de l'oxygène et de la chaleur dans l'atténuation du virus charbonneux par la méthode de M. Pasteur. Théorie générale de l'atténuation par l'application de ces deux agents aux microbes aérobies, p. 1471.

Hanriot et Blarez. Sur la solubilité de la strychnine dans les acides, p. 1504.

Pouchet, A. G. Sur une substance sucrée retirée des poumons et des crachats de phthisiques, p. 1506, 1601.

Béchamp, A. Sur la zymase du lait de femme, p. 1509.

Dujardin-Beaumetz et Audigé. Recherches expérimentales sur l'alcoolisme chronique, p. 1556.

Duvillier, E. Sur quelques combinaisons appartenant au groupe des créatines et créatinines, p. 1583.

Chicandard. Sur la fermentation panaire, p. 1585.

Chareyre, J. Sur la formation des cystolithes et leur résorption, p. 1594.

Husson, C. Des condiments et particulièrements du sel et du vinaigre au point de vue de l'alimentation, p. 1603.

Hanriot. Sur un acide provenant de l'oxydation de la strychnine, p. 1671

Rohart. Faits et résultats pour servir à la démonstration de nouvelles propriétés du sulfate ferrique, p. 1705.

Marcano, V. Sur la panification, p. 1733.

Frænkel et Geppert. Sur la respiration dans l'air raréfié, p. 1740.

Muntz, A. et Aubin. Détermination de l'acide carbonique de l'air dans les stations d'observation du passage de Vénus, p. 1793.

Klein, D. Sur les émétiques de l'acide mucique, p. 1802.

Charbonnel-Salle, L. Sur le mécanisme de la respiration chez les chéloniens, p. 1803.

Bert, Paul. Sur l'action de mélanges d'air et de vapeur de chloroforme, et sur un nouveau procédé d'anesthésie, p. 1831.

Moussette. Observations sur la fermentation panaire, p. 1865.

Druckfehler.

Seite 257 ist zu lesen: berechnet für $C^4H^7NO^4$ statt: berechnet für $C^4H^7NO^2$.

Seite 387 Zeile 9 v. u. lies: «nicht zulässig» statt: «nicht unzulässig».

Seite 427 Zeile 14 und Zeile 16 v. u. ist zu lesen: «Aesculus hippocastanum» statt: «Aesculus hipocastanum».

Seite 524 Zeile 20 v. u. lies: «Gegen kalte concentrirte Schwefel- und Salzsäure» statt: «Gegen alle concentrirte Säuren».







